**Załącznik nr 2 do Ogłoszenia**

**Charakterystyka usług mikrobiologicznych**

**I Definicje:**

1. Produkt leczniczy – preparat komórek powstały z przetworzenia (izolacji i hodowli komórkowej in vitro) materiału biologicznego (tkanki tłuszczowej po zabiegu liposukcji) gotowy do aplikacji w postaci zawiesiny komórek w roztworze mleczanu Ringera lub placebo w postaci mleczanu Ringera.

2. Materiał do badań jałowości – materiał do badań stanowić będzie wprowadzony do pożywki BD BACTEC Aerobic i Anaerobic/F Medium materiał:

2.1. z etapu hodowli komórek/pasażowania:

a) „pożywka po hodowli” – pożywka hodowlana po hodowli komórek, zebrana przed wymianą pożywki lub oderwaniem komórek z butelki hodowlanej, składająca się z MSC NutriStem® XF Basal Medium Xeno & Serum -Free medium for culture of hMSC (Biological Industries), MSC NutriStem XF Suplement Mix (Biological Industries) i 0,1% roztworu Antibiotic-Antimycotic Solution (Corning).

2.2. z etapu rozmrażania komórek:

a) „pożywka po rozmrożeniu” – pożywka hodowlana ( MSC NutriStem® XF Basal Medium Xeno & Serum -Free medium for culture of hMSC (Biological Industries), MSC NutriStem XF Suplement Mix (Biological Industries) i 0,1% roztworu Antibiotic-Antimycotic Solution; Corning) zmieszana z krioprotektantem (Stem CellBanker GMP Grade; Zenoaq Takara) w stosunku 10:1.

2.3. z etapu wytwarzania produktu leczniczego terapii zaawansowanej:

a) „produkt leczniczy ADSC” – nadsącz (Ringer Lactate; Baxter) po ostatnim wirowaniu w procesie płukania komórek w roztworze Ringer Lactate, bezpośrednio przed przygotowaniem produktu leczniczego / „produkt leczniczy placebo” – porcja Ringer Lactate (Baxter) niemająca kontaktu z materiałem biologicznym, pobrana z tej samej porcji odczynnika, z której zostanie przygotowany produkt leczniczy placebo.

3. Materiał do oznaczania poziomu endotoksyn bakteryjnych stanowić będzie materiał pobrany z etapu:

3.1. Hodowli komórek/pasażowania:

a) „pożywka po hodowli” - pożywka hodowlana po hodowli komórek, zebrana przed wymianą pożywki lub oderwaniem komórek z butelki hodowlanej, składająca się z MSC NutriStem® XF Basal Medium Xeno & Serum -Free medium for culture of hMSC (Biological Industries), MSC NutriStem XF Suplement Mix (Biological Industries) i 0,1% roztworu Antibiotic-Antimycotic Solution (Corning).

3.2. Wytwarzania badanego produktu leczniczego terapii zaawansowanej:

a) „produkt leczniczy ADSC” – nadsącz (Ringer Lactate) po ostatnim wirowaniu w procesie płukania komórek w roztworze Ringer Lactate, bezpośrednio przed przygotowaniem produktu końcowego,

b) „produkt leczniczy placebo” porcja Ringer Lactate (Baxter) niemająca kontaktu z materiałem biologicznym, pobrana z tej samej porcji odczynnika, z której zostanie przygotowany produkt leczniczy placebo.

II. Podstawowy zakres usług:

1. Materiał do badań jałowości stanowić będzie wprowadzony do pożywki BD BACTEC Plus Aerobic/F Medium i BD BACTEC Plus Anaerobic/F Medium materiał biologiczny pobrany w trakcie pobrania tkanki tłuszczowej, preparatyki tkanki tłuszczowej (izolacji komórek), hodowli/pasażowania komórek, rozmrażania komórek oraz z etapu wytwarzania produktu leczniczego terapii zaawansowanej. Badanie jałowości (wykrywanie wzrostu drobnoustrojów tlenowych, beztlenowych, grzybów w warunkach tlenowych i beztlenowych) musi odbyć się w skwalifikowanym systemie do posiewu płynów wykrywającym obecność drobnoustrojów w warunkach tlenowych i beztlenowych na podstawie wzrostu ilości wydzielanego CO2, przekładającego się na wzrost fluorescencji sczytywanej w urządzeniu metodą zwalidowaną zgodnie z aktualnymi wymaganiami Farmakopei Polskiej (o ile nie zostały wykonane wcześniej z obowiązującym na ten czas wydaniem). Akceptowalne jest wykonanie badania dla prób „pożywka po hodowli”/ „pożywka po rozmrożeniu” metodą zwalidowaną dla medium zawierającego pożywkę hodowlaną zawierającą ≥ 0,1% roztworu Antibiotic-Antimycotic Solution. Poprzez zakres usługi rozumie się:
2. Wykonanie badania żyzności otrzymanych podłoży mikrobiologicznych przed wykonaniem badania jałowości. Za zakup podłoży mikrobiologicznych i ich dostarczenie Wykonawcy odpowiada Zamawiający.
3. Wykonanie identyfikacji drobnoustrojów.
4. Wykonanie antybiogramu.
5. Materiał do oznaczania poziomu endotoksyn bakteryjnych stanowić będzie materiał pobrany z etapu hodowli/pasażowania komórek oraz wytwarzania produktu leczniczego terapii zaawansowanej. Materiał będzie umieszczony w probówce 5 ml – minimum 1 ml płynu. Oznaczanie poziomu endotoksyn bakteryjnych musi odbywać się w skwalifikowanym, zautomatyzowanym systemie do oznaczania poziomu endotoksyn bakteryjnych kinetyczną, ilościową metodą chromogenną z zastosowaniem gotowych kasetek z niezbędnymi odczynnikami, metodą zwalidowaną zgodnie z aktualnymi wymaganiami Farmakopei Polskiej (o ile nie zostały wykonane wcześniej z obowiązującym na ten czas wydaniem). Wykonanie oznaczenia poziomu endotoksyn bakteryjnych musi wystąpić „na cito”, tj. w ciągu 1 h od momentu otrzymania. Akceptowalne jest wykonanie badania dla prób „pożywka po hodowli” metodą zwalidowaną dla medium hodowlanego zawierającego ≥ 0,1% roztworu Antibiotic-Antimycotic Solution.

Podstawowy zakres:

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Materiał do analizy mikrobiologicznej** | **Zakres badań** | **Wynik** | **Kryterium akceptacji** | **Wymagana objętość materiału** | **Warunki przechowywania i transportu prób do badań** | **Warunki i przebieg badania** | **Liczba badań** |
| Materiał biologiczny, nadsącze | Badanie jałowości:  wykrywanie wzrostu drobnoustrojów w warunkach tlenowych i beztlenowych | Jałowy / niejałowy | jałowy | 5-8 ml materiału do badań | Temperatura 15-25°C,  ochrona przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych, silnymi wstrząsami i przed upadkiem | Zgodnie z instrukcją producenta podłoży BD Bactec Plus Aerobic i Anaerobic F/Medium w systemie do posiewu płynów wykrywającym obecność drobnoustrojów w warunkach tlenowych i beztlenowych na podstawie wzrostu ilości wydzielanego CO2, przekładającego się na wzrost fluorescencji sczytywanej w urządzeniu, metodą zwalidowaną zgodnie z aktualnymi wymaganiami Farmakopei Polskiej. Usługa zawiera wykonanie czynności określonych w części II punkcie 1 podpunkcie a), podpunkcie b) wyłącznie w przypadku zaznaczenia na Skierowaniu na badania mikrobiologiczne (Załącznik 5 do Umowy) przekazania prób na identyfikację drobnoustrojów po uzyskaniu wyniku „niejałowy” oraz podpunkcie c) wyłącznie w przypadku zaznaczenia na Skierowaniu na badania mikrobiologiczne (Załącznik 5 do Umowy) przekazania prób na wykonanie antybiogramu po uzyskaniu wyniku „niejałowy” w próbach „produkt leczniczy”. | 100 |
| Nadsącze | Badanie poziomu endotoksyn bakteryjnych | W normie / poza normą\* | w normie  (\* w normie <2.00 EU/ml) | Minimum 1 ml materiału do badań | Badanie wykonane w zautomatyzowanym systemie do oznaczania poziomu endotoksyn bakteryjnych kinetyczną, ilościową metodą chromogenną z zastosowaniem gotowych kasetek z niezbędnymi odczynnikami, metodą zwalidowaną zgodnie z aktualnymi wymaganiami Farmakopei Polskiej | 150 |

III. Każdorazowo po otrzymaniu przesyłki z materiałem do badań, Wykonawca jest zobowiązany do weryfikacji temperatury transportu poprzez podłączenie, znajdującego się w opakowaniu transportowym, rejestratora temperatury do portu USB komputera. Wykonawca zobowiązany jest do wykonania wydruku rejestracji temperatury i pisemnego na nim potwierdzenia prawidłowej temperatury transportu zgodnie z warunkami określonymi w tabeli powyżej, a także przesłanie skanu wydruku do Zamawiającego drogą elektroniczną pod adres [lbbk@wum.edu.pl](mailto:lbbk@wum.edu.pl) w czasie do 24h od momentu odebrania przesyłki.

IV. Transport samochodowy zapewnia Zamawiający. Zamawiający deklaruje, że próby na badania kontroli jakości pobrane w trakcie wytwarzania produktów leczniczych terapii zaawansowanej będą gotowe do odbioru zazwyczaj przed godziną 13:30. Dostarczenie prób musi nastąpić do godziny 14:30 ze względu na ustalony harmonogram współpracy z ośrodkiem aplikującym produkt leczniczy w badaniu klinicznym oraz ograniczony czas okresu ważności produktów leczniczych terapii zaawansowanej .

.............................................................

(podpis osoby/ osób uprawnionych do występowania w imieniu Wykonawcy)