

НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біомедичної інженерії
Кафедра трансляційної медичної біоінженерії

«До захисту допущено»
В.о. завідувач кафедри

_____ Олександр БЕСАРАБ
“ ___ ” _____ 20__ р.

Дипломний проєкт
на здобуття ступеня бакалавра
за освітньо-професійною програмою
«Регенеративна та біофармацевтична інженерія»
спеціальності 163 Біомедична інженерія
на тему: «Біоінженерний проєкт конструювання та виготовлення
біоімплантату для використання у кардіохірургії»

Виконала:

здобувачка ІV курсу, групи БФ-91

Бережецька Владислава Сергіївна _____

Керівник:

Доцент каф. Трансляційної медичної біоінженерії, доктор філософії

Мотроненко Валентина Василівна _____

Консультант з «Розробки схеми автоматизації»:

Ст. викладач каф. технічних та програмних засобів автоматизації

Жураковський Ярослав Юрійович _____

Консультант з «Охорони праці та техніки безпеки»:

к.т.н., доц каф. Охорони праці, промислової та цивільної безпеки

Демчук Гліб Вікторович _____

Рецензент:

ст.викладач кафедри ББЗЛ

Латенко Світлана Борисівна _____

Засвідчую, що у цьому дипломному проєкті
немає запозичень з праць інших авторів без
відповідних посилань.

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2023

Відомість дипломного проєкту

№ з/п	Формат	Позначення	Найменування	К-сть листів	Примітка
1	A4		Завдання на дипломний проєкт	2	
2	A4	БФ9102.12.30.001 ПЗ	Пояснювальна записка	79	
3	A1	БФ9102.12.30.002 ТС	Технологічна схема	1	
4	A1	БФ9102.12.30.003 АС	Апаратурна схема	1	
5	A1	БФ9102.12.30.004 СА	Схема автоматизації	1	

				БФ9102.12.30.001 ПЗ		
	ПІБ	Підп.	Дата			
Розробн.	Бережецька			Біоінженерний проєкт конструювання та виготовлення біоімплантату для використання у кардіохірургії	Лист	Листів
Керівн.	Мотроненко				1	1
Консульт.					КПІ ім. Ігоря Сікорського Каф. ТМБ Гр. БФ-91	
Н/контр.						
Зав.каф.	Бесараб О.Б					

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Факультет біомедичної інженерії
Кафедра трансляційної медичної інженерії

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 163 Біомедична інженерія

Освітньо-професійна програма «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о завідувач кафедри

_____ Олександр БЕСАРАБ

«__» _____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ

на дипломний проєкт студенту

Бережецька Владислава Сергіївна

1. Тема проєкту «Біоінженерний проєкт конструювання та виготовлення біоімплантату для використання у кардіохірургії», керівник проєкту Мотроненко Валентина Василівна, доцент, доктор філософії, затверджені наказом по університету від «31» травня 2023р. №2106-с
2. Термін подання студентом проєкту - 16.06.2023р
3. Вихідні дані до проєкту
4. Зміст пояснювальної записки: обґрунтувати медико-біологічного значення кардіоімплантатів, характеристика технології для отримання біомедичного продукту, опис конструкції технологічного устаткування, розробит технологічну та апаратурну схем виробництва, розробити схему автоматизації виробництва, опис заходів безпеки для належних умов праці.
5. Перелік графічного матеріалу (із зазначенням обов'язкових креслеників, плакатів, презентацій тощо) технологічна схема – 1 арк. А1, апаратурна схема – 1 арк. А1, схема автоматизації – 1 арк. А1.
6. Консультанти розділів проєкту

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 3.2. Розробка схеми автоматизації	Жураковський Я.Ю. старший викладач кафедри технічних та програмних засобів автоматизації	03.04.2023	
Розділ 4. Охорона праці та техніка безпеки	Демчук Г.В. к.т.н., доцент кафедри “Охорони праці, промислової та цивільної безпеки”	03.04.2023	

7. Дата видачі завдання

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проєкту	Термін виконання етапів проєкту	Примітка
1	ВСТУП. Медико-біологічна частина. Опис технологічної частини	03.04.2023	
2	Апаратурно-інженерна частина. Охорона праці та техніка безпеки.	20.04.2023	
3	Креслення технологічної та апаратурної схем.	08.05.2023	
4	Креслення схеми автоматизації	22.05.2023	
5	Оформлення пояснювальної записки і схем.	05.06.2023	

Здобувач

Владислава БЕРЕЖЕЦЬКА

Керівник

Валентина МОТРОНЕНКО

**Пояснювальна записка
до дипломного проєкту
на тему: «Біоінженерний проєкт конструювання
та виготовлення біоімплантату для використання у кардіохірургії»**

РЕФЕРАТ

Дипломний проєкт викладено на 79 сторінках друкованого тексту. Складається зі вступу, переліку скорочень, чотирьох розділів, висновків, з переліку посилань, 3 рисунків, 22 таблиць, 61 посилання.

Метою роботи є проєкт конструювання біоімплантату отриманого методом 3D-біодруку аортального клапану, який забезпечить ефективне лікування та покращить життя пацієнта.

Тканинно-інженерний аортальний клапан має потенціал для ремодельовання, регенерації та росту, але створення природної анатомічної складності з клітинною гетерогенністю залишається складним завданням. За допомогою порівняння різних характеристик, було обрано технологію виготовлення біоімплантату, а саме 3D-біодрук на основі біочорнил з мезенхімальних стовбурових клітин.

Запропонована технологія дозволяє точно виготовити імплантат за індивідуальними параметрами кожного пацієнта. А запропонований склад біочорнил дозволяє імплантату інтегруватись з природною тканиною серця та забезпечує його біологічну сумісність.

Ключові слова: тканинна інженерія, регенерація, 3D-біодрук, біоімплантат, аортальний клапан, мезенхімальні стовбурові клітини, біосорнило

ABSTRACT

The diploma project is presented on pages of printed text. It consists of an introduction, a list of abbreviations, four chapters, conclusions, a list of references, 3 figures, 22 tables, and 61 reference.

The aim of the work is to design an aortic valve bioimplant that will provide effective treatment and improve the patient's life.

The tissue-engineered aortic valve has the potential for remodelling, regeneration, and growth, but creating natural anatomical complexity with cellular heterogeneity remains a challenge. By comparing various characteristics, a bioimplant manufacturing technology was chosen, namely 3D bioprinting based on bioink from mesenchymal stem cells.

The proposed technology allows for the precise manufacture of an implant according to the individual parameters of each patient. The proposed composition of the bioink allows the implant to integrate with the natural heart tissue and ensures its biological compatibility.

Key words: tissue engineering, regeneration, 3D bioengineering, bioimplant, aortic valve, mesenchymal stem cells, bioink

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ.....	9
ВСТУП	10
РОЗДІЛ 1. МЕДИКО-БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА.....	12
1.1 Медико-біологічне обґрунтування.....	122
1.2. Характеристика біомедичного продукту та обґрунтування складу (конструкції).	17
1.3. Біологічні основи отримання біомедичного продукту	20
РОЗДІЛ 2. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	28
2.1. Обґрунтування вибору технології виготовлення.....	28
2.2 Опис технологічного процесу.....	31
2.3 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів.....	40
2.4 Матеріальний баланс	43
2.5 Контроль процесу виготовлення	46
2.6 Стандартизація біомедичної продукції.....	50
РОЗДІЛ 3. АПАРАТУРНО-ІНЖЕНЕРНА ЧАСТИНА	52
3.1. Обґрунтування конструкції технологічного устаткування	52
3.2. Розробка схеми автоматизації технології виготовлення	56
3.2.1 Опис розробленої схеми автоматизації.....	56
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ	59
4.1 Характеристика приміщення при виготовленні об'єкта.....	59
4.2 Оцінка небезпечних і шкідливих виробничих факторів.....	61
4.3 Електробезпека.....	62
4.4 Контамінація виробу та деградація матеріалу	63
ВИСНОВОК.....	67
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	68
ДОДАТКИ.....	74

					БФ9102.12.30.001 ПЗ		
Вим	Лист	№ докум.	Підпис	Дат			
Розробив		Бережецька В.С					
Перевірів		Мотроненко В.В					
Реценз.							
Н. Контр.							
Затвердив		Бесараб О.Б.					
					Літ.	Аркуш	Аркушів
					8	8	
					КПІ ім. Ігоря Сікорського		

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

ССЗ - серцево-судинні захворювання

ЗАК - заміна аортального клапана

МСК - мезенхімальні стовбурові клітини

SA - альгінат

COL - колаген

AG – агароза

ЕСМ (англ. extracellular matrix) – позаклітинний матрикс

Triton X-100 - t-октилфеноксиполіетоксietанол

TnBP - три-н-бутилфосфату

ЕВВ - екструзійний біодрук

ДВВ - біодрук краплями

ЛВВ – лазерний біодрук

GMP (англ. Good Manufacturing Practice) – належна виробнича практика

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						9
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВСТУП

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) як основна причина захворюваності та смертності в усьому світі на сьогоднішній день залишаються однією з найскладніших клінічних проблем. ССЗ, такі як вроджені вади серця, гострий коронарний синдром, артеріальна гіпертензія та аритмії синдром, гіпертонія та аритмії, спричиняють 17,5 млн. смертей на рік і прогнозовано зростатимуть на рік, а до 2030 року прогнозовано збільшиться до 23,6 мільйона. На пізніх стадіях серцево-судинних захворювань трансплантація або трансплантація або заміна зазвичай є єдиною терапевтичною можливістю [1].

Серцеві клапани є важливою складовою та забезпечують критичний односторонній потік крові через серцево-судинну систему. Особливо важливим є аортальний клапан, який спрямовує кров через аорту та коронарні артерії. Ефективність роботи клапана контролюється його складною анатомічною геометрією та гетерогенною біомеханікою тканин [2]. Вроджені вади або набуті захворювання клапанів порушують форму клапана або механіку тканин, що призводить до звуження площі отвору клапана або протікання. Захворювання аортального клапана є значною причиною захворюваності та смертності. Хоча аортальний клапан іноді можна відремонтувати хірургічним шляхом, протезування є єдиним варіантом для переважної більшості пацієнтів [3].

Метою роботи є проектування технології для виготовлення біосумісного біоімплантату аортального клапану, який забезпечить ефективне лікування та покращить життя пацієнта.

Тому відповідно до мети роботи поставлено наступні **завдання**:

- проаналізувати існуючі технології виробництва біоімплантатів, та надати медико-біологічне обґрунтування;
- обґрунтувати вибір технології та склад біомедичної конструкції;
- розробити технологію та автоматизацію виробництва кардіоімплантатів методом 3Д-біодруку

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						10
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- провести матеріальні розрахунки виробництва;
- підібрати технологічне обладнання для реалізації технологічних процесів;
- навести характеристику заходів безпеки для відповідних умов праці, які необхідно забезпечити на виробництві.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

РОЗДІЛ 1. МЕДИКО-БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

1.1 Медико-біологічне обґрунтування

Патологічні зміни, спричинені втратою структури та функції серця, все ще залишаються основною причиною смертності серед населення [4]. Фактори, що спричиняють такі втрати, часто різноманітні, такі як вроджені вади серця, ішемічна хвороба серця, травми, запалення тощо, які в сукупності призводять до прогресуючого погіршення серцевої функції [5].

Захворювання серцевих клапанів можуть бути вкрай серйозними та навіть призвести до смерті. Для багатьох людей з такими захворюваннями єдиним виходом є хірургічна заміна клапану на механічний або біологічний протез.

Серцеві клапани можуть фіброзуватися або кальцифікуватися з віком чи внаслідок хвороби, що може в подальшому призвести до стенозу, який потребує заміни клапану. Клапани також можуть стати недієздатними, допускаючи зворотний потік, що також потребує заміни або ремонту [6].

Найчастіше серцевий клапан, який потребує заміни - це аортальний клапан. Це пов'язано з тим, що він піддається більшому навантаженню порівняно з іншими клапанами серця через великий об'єм крові, який проходить через нього при кожному скороченні серця.

Захворювання аортального клапана може бути спричинене аортальним стенозом, аортальною регургітацією або їх поєднанням. Патологія може розвиватися протягом багатьох років, симптоми можуть не з'являтися до тих пір, поки стан не стане важким. Тоді ризик захворюваності і смертність від аортальних вад клапанів дуже високі[7].

Стеноз аортального клапана є найпоширенішою вальвулярною хворобою, яка описує звуження отвору аортального клапана між аортою та лівим шлуночком.

Регургітація аортального клапана, також відома як недостатність аортального клапана або некомпетентність аортального клапана, - це

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		12

вальвулопатія, яка описує протікання аортального клапана під час діастоли, що спричиняє потік крові у зворотному напрямку з аорти в лівий шлуночок.

Лікування захворювань аортального клапану - складний процес, який вимагає знань і досвіду. Одним з методів лікування є біоімпланти, які успішно застосовуються в медицині вже не одне десятиліття. Використання біоімплантів у лікуванні захворювань клапана дозволяє пацієнтам повернутися до нормального життя і покращує якість їхнього життя.

Біоімпланти - це імпланти для медичної або клінічної терапії, які визначаються як інженерні медичні пристрої, розроблені для заміни нефункціонуючих або зламаних біологічних структурних частин людського тіла, забезпечуючи підтримку відповідного носія. Значний розвиток досліджень у галузі біоматеріалів збільшив сферу їх використання для широкого спектру у різних галузях медицини[8].

Біоімпланти призначені для фіксації, підтримки, відтворення або покращення функцій людських тканин шляхом інтеграції в людський організм, властивостей матеріалів та цілісності біоімплантів. Останнім часом попит на біоімпланти надзвичайно зріс через старіння населення та дефіцит донорських органів у медицині [9].

Заміну аортального клапана (ЗАК) почали виконувати з 1950-х років. З того часу хірургічну процедуру оптимізували, щоб зменшити ризик ускладнень, пов'язаних з операцією, технічний прогрес у дизайні клапанів значно покращив довгостроковий прогноз. Після початкового використання механічних балонних клапанів було впроваджено та оцінено численні одно- та двоклапанні клапани [10]. А у 1960-х роках на ринку з'явилися біопротезні клапани як альтернатива механічним клапанам.

Варто зазначити, що на додаток до переважної кількості ЗАК, які виконуються щороку були розроблені хірургічні методики, які не потребують імплантації протезного клапана. У молодих пацієнтів альтернативою механічній заміні клапана є операція Росса [11]. В окремих пацієнтів з регургітацією

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		13

аортального клапана ізольоване відновлення аортального клапана або в поєднанні з заміною розширеного кореня аорти може зберегти нативний аортальний клапан. Однак ці високоспеціалізовані операції з особливими показаннями часто проводяться лише в окремих центрах.

Але все ж таки основним питанням для пацієнтів, які потребують ЗАК, залишається імплантація механічного чи біопротезного клапана [12].

На вибір імплантації біопротеза замість механічного клапана особливо впливають:

-ризик інсульту та кровотечі, пов'язаний з тромбогенністю механічних клапанів;

-менший ризик дисфункції клапана;

-зменшення операційних ускладнень, в тому числі смертності, при повторних операціях, що робить такі процедури менш важливими [13].

Серед переваг біологічних імплантатів можна виділити наступне.

Важливою перевагою використання біологічних клапанів - порівняно із заміною клапанів механічними протезами - є те, що немає необхідності в постійному прийомі антикоагулянтів. Через тромбогенність матеріалів, з яких виготовляють механічні клапани, високу напругу зсуву навколо шарнірів і струменів зворотного потоку, які пошкоджують кров і активують шляхи тромбоутворення, саме тому пацієнти потребують пожиттєвої антикоагуляційної терапії, щоб уникнути утворення тромбів [14]. Тому пацієнт не потребує розріджувачів крові і усуваємо ризик, пов'язаний з цим типом медикаментозного лікування. Ще однією перевагою для багатьох пацієнтів є те, що біологічні клапани не видають жодних звуків. Механічні клапани генерують клацання, яке часто чувають пацієнти і навіть їхні родичі [15]. Клацання механічних клапанів вважається джерелом занепокоєння та погіршенє кисть життя пацієнта, що може призводити до роздратування, розладів сну, порушень концентрації уваги і в деяких випадках до соціального збентеження. При виборі клапану варто враховувати потенційний ризик впливу шуму клапана на якість життя пацієнтів.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						14
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Ще однією перевагою є те, що біологічні серцеві клапани використовуються в більшості випадків заміни і, як правило, вважаються найкращим варіантом у всіх вікових групах [16].

Серед недоліків біологічних клапанів серця варто виділити меншу площу клапанного отвору і ризик структурної дегенерації клапана, що може призвести до необхідності повторної операції. Біологічні клапани мають відносно низьку довговічність порівняно з механічними клапанами: багато з них потребують повторної операції через 10-20 років. Також недоліком є ціна біологічних клапанів. Він коштує вдвічі дорожче, ніж механічний протез серцевого клапана [17].

Зростаюча поширеність серцево-судинних захворювань через підвищення рівня стресу та неправильні харчові звички, серед іншого, стимулює ринок заміни аортального клапана [18].

Заміну аортального клапану потребують як дорослі так і діти. Патологія клапанів у немовлят та дітей ставить перед дитячим кардіохірургом численні виклики. Без сумніву, відновлення клапанів є метою втручання, оскільки відновлення анатомії та фізіології клапанів з використанням власної тканини забезпечує ріст і потенційно кращий довгостроковий результат. Коли реконструкція не вдається або не є можливою, заміна клапана стає неминучою. Тому постає питання, який клапан обрати. Клапани з гомотрансплантата і біоімплантата спочатку досягають чудових гемодинамічних результатів, але ціною прискореної дегенерації. Малий розмір пацієнта і ризик тромбоемболії, яка може погано переноситися і яку досить важко контролювати у деяких дітей, обмежують корисність механічних клапанів, а соматичне розростання є універсальною проблемою для всіх доступних протезів. На сьогоднішній день вибір клапана, який здається безсумнівним, - це біопротезування і процедури Росса або Росса-Конно, коли це необхідно для аортального клапана [19]. При операції Росса дефектний аортальний клапан замінюється на власний легеневий клапан пацієнта. Процедура зазвичай виконується в дитячому або підлітковому

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						15
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

віці і може відновити довготривалу функцію клапана. Така операція вимагає великого досвіду та спеціалізованого обладнання і може нести ризик ускладнень, таких як кровотеча, інфекція та обмеження росту аорти. У свою чергу біоімпланти мають низький ризик тромбозу та емболії. Важливою з переваг застосування біоклапанів у дітей є їх потенціал до росту і відновлення, що може зменшити потребу в повторних операціях заміни клапану в міру росту дитини. Але все ж таки головним недоліком біоімплантатів клапанів у дітей залишається потреба у їх заміні протягом життя.

Medtronic Plc., LivaNova PLC, CryoLife, Inc. та Edwards Lifesciences Corporation, серед інших, є основними гравцями на світовому ринку заміни аортального клапана [18].

У таблиці 1 розглянуто найпопулярніші компанії з виробництва біологічних серцевих клапанів.

Таблиця 1.1

Назва продукту	Виробник	Склад
INSPIRIS RESILIA	Edwards Lifesciences, Irvine, CA, США	Бичачий перикард
Avalus Bioprosthesis	Medtronic PLC, Dublin, Ірландія	Перикард великої рогатої худоби
CryoValve SG Pulmonary Human Heart Valve	CryoLife, Kennesaw, GA, США	Перикард бика
Solo Smart	LivaNova PLC, Велика Британія	Бичачий перикард
Trifecta Valve	Abbott Laboratories, США	Перикард великої рогатої худоби

Використання біопротезів серцевих клапанів стає все більш поширеним в останні роки завдяки їхній безпечності, ефективності та довговічності.

Це призвело до збільшення попиту на ці пристрої і стимулювало розвиток виробничих процесів, які використовуються для їх створення. Крім того, зі старінням населення та зростанням частоти захворювань клапанів потреба в ефективних методах лікування, таких як біопротезування, стає ще більш гострою. Загалом, актуальність серцевих біопротезів полягає в їх здатності покращити якість життя пацієнтів із клапанними захворюваннями та забезпечити безпечний і ефективний варіант лікування.

1.2. Характеристика біомедичного продукту та обґрунтування складу (конструкції).

У сучасній медицині регенеративна та тканинна інженерія відіграють все більш важливу роль у вирішенні проблем, пов'язаних з втратою функції тканин та органів. Вони відкривають нові перспективи для розробки та виробництва біоімплантатів, які можуть замінити пошкоджені або хворі органи та тканини. Одним з найважливіших елементів серцево-судинної системи є аортальний клапан, який регулює потік крові з лівого шлуночка в аорту [20]. Виготовлення біоімплантатів регулюється Законом України “Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині” щодо біоімплантатів, ксеноімплантатів, медико-біологічних вимог до тварин, умов їх утримання, порядку вилучення у тварин анатомічних матеріалів для виготовлення ксеноімплантатів, Постановою КМУ від 24 лютого 2021 року №158 [30].

Головним завданням біоімплантату є відновлення функції аортального клапану та поліпшення якості життя пацієнтів з вадами серця. Тому було розроблено біоімплантат аортального серцевого клапану, що виготовлений за допомогою технології 3D-біодруку з використанням біочорнила на основі альганіту, колагену та агарози, мезенхімальних стовбурових клітин(МСК), які були виділені з кісткового мозку. Характеристика розміру зображено на рисунку 1, товщина стінки зображено у міліметрах та становить 2 мм [31]. Такий біоімплантат варто зберігати у холодильнику при низьких температурах, а саме від 2°C - 8°C, що забезпечить цілісність та стабільність медичного продукту.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						17
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

стовбуровими клітинами в біодруку, ймовірно, через простоту культивування і розмноження, мультипотентність і стабільність порівняно з іншими типами стовбурових клітин [23]. Це важливо для успішної інтеграції біоімплантату та забезпечення його стабільності в організмі, покращенню його механічних властивостей.

Однак, успішність біосумісності МСК також залежить від їх взаємодії з біочорнилами, що дозволяє збільшити відсоток ефективного виготовлення біоімплантатів для аортального клапана серця. Гідрогелі, такі як альгінат (SA), колаген (COL) та агароза (AG), привернули найбільшу увагу як перспективні матриці для біоінженерів через їхню природжену біосумісність, низьку цитотоксичність та високий вміст води, що імітують природний ЕСМ, [24].

Альгінат - це біосумісний і біорозкладний полісахарид, який отримують з морських водоростей. Має кілька переваг для створення біочорнил. Забезпечує швидке гелеутворення в присутності Ca_2^+ або інших двовалентних катіонів, часто використовують як біочорнило для легкої та швидкої інкапсуляції клітин і міжшарової адгезії під час процесу пошарового друку[25].

Використання біочорнило, що містить колаген для серцевих клапанів, є перспективним підходом у розробці біоімплантатів. Колаген є основним білком, що міститься в природних тканинах. Колагеновмісні гідрогелі наразі є найпопулярнішим клітинним каркасом і матеріалом для тканинної інженерії, особливо якщо передбачається робота з клітинами [26]. Вони забезпечують підтримку росту, диференціації клітин і вироблення позаклітинного матриксу. Проте найважливішим тут є те, що матеріали, створені за допомогою 3D біодруку та колагену, мають дуже високі шанси на клінічний успіх, адже колагенові біоматеріали вже давно активно та успішно застосовуються в клінічній практиці. Це можливо завдяки унікальним властивостям колагену - біосумісності та низькій імуногенності [27].

Агароза - це природний полімер, який використовується як біочорнило завдяки своїй низькій температурі гелеутворення низькій температурі

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						19
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

гелеутворення (32°C), біосумісності та механічній міцності [31]. Крім того, друк складних структур можливий агарозою завдяки унікальним желуючим властивостям агарози, які не потребують зшивача [32].

Всі компоненти, такі як агароза, альгінат і колаген, є натуральними матеріалами, які зазвичай добре взаємодіють з живою тканиною. Це знижує ризик відторгнення та покращує біосумісність біоімплантату. Включення колагену до складу біочорнила може допомогти імітувати природну структуру і функцію аортального клапана, альгінат і агароза можуть підвищити механічну міцність біочорнила, яка забезпечує структурну підтримку і стійкість до фізичних навантажень. Також серед фізичних та механічних властивостей альгінату та агарози можна віділити те, що вони надають біоімплантату необхідну м'якість та гнучкість, підтримуючи його функціональність як клапана. Колаген, як природний компонент тканин, може сприяти більшій сумісності з оточуючими тканинами та покращенню інтеграції. У світлі цих переваг біологічні чорнила на основі агарози, альгінату та колагену можуть бути привабливим варіантом для виробництва аортального клапана [32].

1.3. Біологічні основи отримання біомедичного продукту

Аортальний клапан - один з найважливіших компонентів серцево-судинної системи, який забезпечує правильний напрямок кровотоку в аорту. Біопротези аортального клапану є перспективним рішенням для пацієнтів з вадами аортального клапану. Сьогодні існує кілька методів створення біопротезів аортального клапану, включаючи використання тканин тваринного походження, децелюляризацію та біодрук. Кожен з цих методів має свої переваги та обмеження.

1. Децелюляризація - це процес видалення алогенних або ксеногенних клітинних антигенів з тканини, які могли б ініціювати імунну відповідь, залишаючи при цьому неушкоджену екстрацелюлярну матрицю (ECM), що складається з суміші структурних і функціональних молекул. В результаті децелюляризації утворюється децелюляризований матрикс. Способи проведення

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						20
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

децелюляризації відрізняються залежно від тканини, що обробляється. Найбільш надійні та ефективні методи децелюляризації методи децелюляризації включають комбінацію фізичних, хімічних та інколи ферментативних методів лікування. Ефективність децелюляризації залежить як від методології обробки, так і від природи тканини [33].

Суть фізичного методи полягає у полегшенню децелюляризації тканин використовують за допомогою таких методів, як ліофілізація, багаторазове заморожування-розморожування, ультразвукова обробка, прями тиск і перемішування. Передумовою кожного з цих методів є руйнування плазматичної мембрани клітини, що призводить до лізису клітин і видалення їх з тканини. Ці методи забезпечують прями і швидкий спосіб децелюляризації. Однак, ці методи, як правило, повинні використовуватися в поєднанні з хімічною екстракцією для підвищення їх ефективності [34].

Для децелюляризації тканин можна використовувати різноманітні хімічні методи обробки як окремо, так і в багатоетапному процесі екстракції. Хімічна децелюляризація - це метод, який в основному покладається на хімічні речовини для лізису і видалення клітин та їх компонентів з навколишнього позаклітинного матриксу (ECM). Хімічні речовини, які часто використовуються для децелюляризації, включають додецилсульфату натрію SDS і t-октил-феноксиполіетоксietанол (Triton X-100). Крім того, для видалення нуклеїнових кислот з матеріалу часто використовують різні склади трипсину і три-н-бутилфосфату (TnBP) [35].

Загалом, типовий протокол децелюляризації містить наступну послідовність кроків:

- 1) лізис клітинних мембран за допомогою фізичної обробки або іонних розчинів;
- 2) відокремлення клітинного компонента від ECM за допомогою ферментативної обробки;
- 3) солюбілізація цитоплазматичних та ядерних клітинних компонентів

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						21
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

цитоплазматичних і ядерних клітинних компонентів за допомогою детергентів;

4) промивання і видалення клітинних залишків з ЕСМ.

Кожен з цих етапів може бути поєднаний з механічним перемішуванням і повторюватися кілька разів для підвищення ефективності. Ефективність децелюляризації та збереження нативних ЕСМ можна оцінити на кожному з етапів за допомогою різних методів [36].

Переваги:

- Мінімізує імунологічну відповідь при імплантації
- Можливість збереження механічної цілісності нативних тканин
- Можливість збереження біохімічного складу нативної тканини
- Можливість зберегти тривимірну мікроархітектуру нативної тканини
- Зберігає біоіндуктивні властивості (криптичні пептиди) для полегшення тканинного ремоделювання тканин
- Широке застосування та економічність
- Можливість довготривалого зберігання

Недоліки:

- Потребує оптимізації процесу децелюляризації для кожної тканини
- Ефективність децелюляризації залежить від джерела тканини, товщини та архітектури
- Біоактивність та структурна цілісність тканини може бути порушена під час виробничого процесу
- Складність у визначенні ефективності децелюляризації
- Властивості скафолду обмежені характеристиками джерела тканини

2. Ксенотрансплантація - це будь-яка процедура, яка передбачає трансплантацію, імплантацію або інфузію людині-реципієнту живих клітин, тканин або органів, отриманих від тварин, або рідин, клітин, тканин або органів людського організму, які мали контакт *ex vivo* з живими клітинами, тканинами або органами тварин, що не належать людині. Розвиток ксенотрансплантації частково зумовлений тим, що попит на людські органи для клінічної

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

трансплантації значно перевищує пропозицію [37].

Коли йдеться про вибір найбільш підходящого донора для ксенотрансплантації, необхідно враховувати кілька факторів. Вибір найбільш підходящого донора для ксенотрансплантації має вирішальне значення для успіху трансплантації та мінімізації ризику ускладнень або відторгнення.

По-перше, вид донора повинен бути філогенетично близьким до виду реципієнта, щоб зменшити ризик гострого відторгнення, яке виникає, коли імунна система реципієнта розпізнає і атакує пересажену тканину як чужорідну.

По-друге, тварина-донор повинна бути здоровою і не мати жодних інфекцій чи захворювань, які можуть передатися реципієнту. Тварини-донори проходять ретельний скринінг і тестування, щоб звести до мінімуму ризик передачі зоонозних інфекцій або хвороб.

Більшість дослідників зупинилися на домашніх свинях (*Sus scrofa domestica*) як на більш прийнятному потенційному донорі для ксенотрансплантації органів людині-реципієнту. Свині легкодоступні, мають сприятливі репродуктивні характеристики, їх можна розводити в контрольованому, чистому середовищі, щоб уникнути патогенних мікроорганізмів, вони піддаються генній інженерії і з меншою ймовірністю викличуть етичні занепокоєння щодо їх використання з цією метою, оскільки в більшості сучасних суспільств їх прийнято використовувати як джерело їжі [12]. Крім того, їхні анатомічні та фізіологічні параметри подібні до людських.

Однак молекулярна несумісність між донором і реципієнтом, що є наслідком великої філогенетичної відстані між свинями і людьми, тягне за собою низку імунних ускладнень після трансплантації, що призводить до відторгнення ксенотрансплантата. Однак досягнення генної інженерії дозволяють модифікувати геном тварин-донорів таким чином, щоб запобігти та мінімізувати небажані імунні реакції, такі як відторгнення, або запобігти інфекціям, пов'язаним з ксенотрансплантатами [38].

Варто виділити тему етики, яка стосовно ксенотрансплантації широко

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						23
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

досліджена. Сюди входять питання, пов'язані як з людьми, так і з нелюдськими тваринами. Концепція, що певні етичні принципи повинні застосовуватися до експериментів, які проводяться на людях, є широко визнаною. Такі принципи включають повагу до людини, добродійність і справедливість. Ці етичні питання детально розглядаються в документі Комітету з етики Міжнародної асоціації ксенотрансплантації [39].

Серед переваг ксенотрансплантації можна зазначити те, що такий метод може допомогти вирішити проблему надлишку органів та надати альтернативний джерело органів для людей, які потребують трансплантації. Ксенотрансплантація також може зменшити час очікування на трансплантацію, що може врятувати життя пацієнтів. За допомогою ксенотрансплантації, органи можуть стати доступними швидше, що може врятувати життя.

Але найсерйознішим ризиком ксенотрансплантації є міжвидова передача невиявлених або неідентифікованих інфекційних агентів тварин пацієнтам, які, в свою чергу, можуть бути передані широкій громадськості. Найгірший сценарій - нова велика епідемія. Потенційний ризик міжвидової інфекції значною мірою посилюється практикою імуносупресії пацієнтів для трансплантації. Серед інших наукових проблем, пов'язаних з ксенотрансплантацією, імуноне відторгнення, невизначена ефективність/життєздатність (чи спрацює трансплантація), а також те, чи не зробить високий рівень імуносупресії пацієнта вразливим до більш частих інфекційних захворювань або раку [40].

3. Тривимірний (3D) біопринтинг, технологія виготовлення біоматеріалів на основі адитивного виробництва, є інноваційною та перспективною стратегією в медичній та фармацевтичній галузях. Здатність виробляти регенеративні тканини та органи зробила цю технологію піонером у створенні штучних багатоклітинних тканин/органів. Наразі для 3D-біодруку використовується широкий спектр біоматеріалів, а дослідники застосовують різноманітні методики [41]. 3D-біодрук - це технологія 3D-друку, що постійно розвивається та вдосконалюється. Те, як дослідник вирішує біодрукувати модель тканини, залежить від його цілей і того,

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						24
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

У DBB біочорнило, що складається з живих клітин та інших біологічних матеріалів (наприклад, гідрогелів) у культуральному середовищі, осаджується у вигляді крапель з точним безконтактним позиціонуванням. Краплі генеруються за допомогою однієї з термічних, п'єзоелектричних або електростатичних технологій - drop-on-demand технологій. Біодрук краплями, як правило, забезпечує помітну життєздатність клітин, хоча електрогідродинамічні струменевий або мікроклапанний біодрук може сприяти підвищенню життєздатності на 80-90% [42]. DBB є відносно швидким методом з низькою вартістю і високою роздільною здатністю, але він може призвести до неоднорідного розміру крапель і засмічення сопла під час друку біологічних чорнил високої щільності.

Лазерний біодрук працює за принципом лазерного енергетичного променя, який використовується для точного структурування клітин. Лазерна енергія може використовуватися у двох різних формах, одна з яких включає фотополімеризація (наприклад, стереолітографія або двофотонна полімеризація), а інший базується на перенесенні клітин (наприклад, прямий лазерний запис та індукований лазером прямий лазерний запис). LBB має перевагу над іншими методами, оскільки викликає мінімальне засмічення і пошкодження, що заважає виживанню клітин [43].

3D-біодрук працює в три окремі етапи: пре-біодрук, біодрук і пост-біодрук. Етап пре-біопринтинг відіграє надзвичайно важливу роль у визначенні властивостей біопринтованих конструкцій. Для того, щоб забезпечити отримання клітин належної якості разом з анатомічно правильними моделями тканин і відповідним плануванням процесу, необхідно анатомічно правильними моделями тканин і відповідним плануванням процесу біодруку, стає надзвичайно важливим є застосування правильних процедур на етапі до біопринтингу.

Етап фізичного біодруку переважно складається з трьох фаз, включаючи приготування біочорнила, налаштування та підготовка біопринтеру і процес біодруку. Кілька параметрів вимагають суворої оптимізації для отримання успішного виготовлення тканинних конструкцій, які можуть включати фізико-

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						26
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

хімічні властивості, біологічні властивості (щільність клітин, життєздатність та біосумісність) та параметри процесу (час біодруку, наявність радіації тощо).

Пост-друк є найбільш важливим етапом у визначенні якості друківаних результатів серед процедур біопринтингу. Щоб надруковані 3D-тканини/органи стали функціональними, за ними слід спостерігати під час належного дозрівання тканин, що може зайняти до восьми тижнів. Зберігання в контрольованому середовищі (тобто рН, температура, концентрація газу, подача поживних речовин, видалення відходів і фізична стимуляція) допомагає підтримувати ріст і життєздатність клітин [44].

Висновок до розділу 1:

На основі наведених даних, можемо зробити висновок, що для конструювання та виготовлення біоімплантату у кардіології було обрано аортальний клапан, який найчастіше потребує заміни. З роками або внаслідок хвороби, такої як аортальний стеноз або аортальна недостатність, клапан може пошкодитись або втратити свою ефективність. Висвітлення фізико-хімічних, біологічних та імунологічних аспектів біоімплантату аортального клапану дає змогу зробити висновки про його потенціал у клінічній практиці та можливості його подальшого вдосконалення, що поліпшує життя пацієнтів з хворобами серця.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						27
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

РОЗДІЛ 2. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

2.1. Обґрунтування вибору технології виготовлення

Серцево-судинні захворювання, такі як інфаркт міокарда, є причиною мільйонів смертей у світі щороку. Серцево-судинні тканини являють собою високоорганізовану і складну тривимірну структуру, що ускладнює їх біоміметичне виготовлення за допомогою звичайних методів виготовлення каркасів [45]. За останні роки медична галузь зазнала значних змін завдяки впровадженню передових технологій, серед яких особливе місце займає 3D-біопринтинг.

Актуальність використання 3D-біопринтерів у виробництві біоімплантатів зумовлена кількома факторами. Зі зростанням чисельності населення зростає і потреба у високоефективних та персоналізованих методах лікування. Заміна або реконструкція пошкоджених тканин за допомогою біоімплантатів стає важливим завданням для медицини. Використання 3D-біопринтерів для виготовлення біоімплантатів відкриває нові можливості в медицині. Дозволяє точно контролювати просторовий розподіл клітин, архітектурну організацію та композиційне налаштування структури [46]. Пропонує високу роздільну здатність і простоту виготовлення біоімплантатів з різноманітних живих клітин.

Порівнюючи біодрук з іншими технологіями виготовлення біоімплантатів можна виділити декілька переваг:

- Можливість створення біоімплантатів, які повністю будуть відповідати індивідуальним потребам пацієнта.
- Завдяки своїй функціональності, а саме високій роздільній здатності дозволяє створювати імплантати зі складними геометричними формами і внутрішніми структурами, що забезпечує кращу взаємодію біоімплантату з оточуючими тканинами та кращий результат лікування.
- Використання живих клітин дозволяє створити імплантати з оптимальними фізичними і біологічними властивостями, зменшує ризик відторгнення і покращує інтеграцію з тканинами.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						28
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- Порівняно з іншими технологіями 3D-біодрук дозволяє швидше виготовлення імплантатів, що знижує час очікування для пацієнтів та дозволяє більш ефективно впроваджувати індивідуальні рішення в медичну практику.

Всі ці переваги роблять 3D-біодрук вигідною технологією для створення біоімплантатів, яка показує великий потенціал у покращенні якості медичної допомоги та індивідуального лікування пацієнтів [47].

Існує три основні види 3D-біодруку, які найчастіше використовують для виготовлення біоімплантатів: 1) струменеві, 2) екструзійні, 3) лазерні. Для виготовлення біоімплантату аортального клапану було обрано 3D-біодрук на основі екструзії. Біодрук на основі екструзії випускає біоматеріали у вигляді циліндричних ниток для побудови 3D-тканин шар за шаром. Подібно до струменевої технології, він використовує тиск для витіснення біоматеріалів у точній орієнтації. Екструзійні методи здатні використовувати біоматеріали з високою щільністю клітин, помірно висока вартість, нижча роздільна здатність порівняно з струменевим друком, але низька швидкість друку і 60-80% життєздатності клітин після друку можуть створювати певні труднощі. Однак він виявився перспективним для друку товстих конструкцій міокарда, серцевих клапанів і кровоносних судин [48].

Правильна обробка вихідного матеріалу, а саме 3D-культивування клітин і приготування біочорнила, має важливе значення для ефективного впровадження технології 3D-біодруку. Ці етапи мають важливе значення для розвитку структур живих тканин і гарантують високу якість і функціональність таких структур. На етапі 3D-культивування було використано матригель Matrigel як позаклітинний матрикс (ECM) для культури мезенхімних стовбурових клітин (MSCs). ECM забезпечує механічну підтримку стовбурових клітин і має велике значення для їхнього функціонування в організмі. Матригель вважається одним з найбільш перспективних матеріалів, що імітують функції ECM [51]. Матригель швидко утворює 3D-структурований гідрогель при 37°C і сприяє морфогенезу, диферен-

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						29
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ціації та проліферації клітин [52]. Для приготування біочорнил було використано альгінат, колаген та агарозу, які поєднували між собою за допомогою перемішування у культуральному середовищі при температурах 37 °С ,65 °С та 0°С. За допомогою NaOH було встановлено рН = 7. Завдяки тким способам обробки матеріалів дозволяє точно контролювати властивості біоматеріалу, такі як в'язкість, стійкість, гелювання та біологічну сумісність.

Обґрунтування фінальних етапів технології отримання біомедичного продукту має на меті забезпечити ефективність та надійність продукту, а також його безпечність для пацієнтів. Пре-процесингу включає у себе фінальні етапи отримання біоімплантату, а саме зшивання, очищення, інкубація та стерелізація готового виробу.

Зшивання відбувається за допомогою фізичного методу, а саме іонна взаємодія з додаванням іонів металів. У цьому методі швидкого зшивання гідрогелі можуть утворюватися в м'яких умовах, при кімнатній температурі і фізіологічному рН, що робить його привабливим методом зшивання. Іонна взаємодія здебільшого використовується як стратегія зшивання для 3D-біодруку біочорнил з альгінату, які зшиті за допомогою хлорид кальцію [49]. CaCl₂ є найбільш часто використовуваним іонним зшивачем через його вищу розчинність у водному середовищі, що призводить до швидкого гелеутворення.

Очищення виготовленого біоімплантату має на меті видалення забруднень, неклітинних матеріалів та потенційно шкідливих речовин, які можуть бути присутніми після процесу 3Д-біодруку.Проводять промивання за допомогою базального живильного середовища. Промивання конструкцій базальним середовищем допомагає забезпечити оптимальні умови для живих клітин, які можуть бути присутніми на поверхні біоімплантату. Промивання конструкцій базальним середовищем допомагає забезпечити оптимальні умови для живих клітин, які можуть бути присутніми на поверхні біоімплантату, забезпечує клітинну адгезію.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						30
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Інкубація біоімплантату є фундаментальним етапом у процесі його розробки та підготовки до використання. Під час інкубації біоімплантат поміщається у інкубатор при стандартних умовах культивування: 37°C, 5% CO₂ і 95% відносної вологості з використанням контрольованого середовища, яке забезпечує оптимальні умови для росту, адгезії та інтеграції тканин. Основна мета інкубації - підтримати життєздатність і функціональність імплантованих клітин або тканин, дозволяючи їм проліферувати і встановити функціональний зв'язок з навколишнім біологічним середовищем.

Стерилізація готового біоімплантату проводиться на основі суміші антибіотик-антимікотик є одним із методів, який має високу ефективність дії та забезпечує високий рівень стерильності.

Фінальним етапом у виготовленні біоімплантату є пакування готового біомедичного продукту. Для первинного пакування було обрано пакування алотрансплантатів у підвісну раму з ізоляцією, що забезпечує захист біоімплантату при різних температурах, зменшуючи при цьому ударний шок під час транспортування та зберігання. Детальний опис запропонованого способу передбачає щільне обгортання алотрансплантатів у міцну плівку з подальшим підвішуванням їх всередині спеціального каркасу. Підвісна плівка, яка створюється навколо них, здатна поглинати удари при зіткненнях, створюючи умови для руху алотрансплантатів на повітряній подушці. Це виключає можливість пошкодження, оскільки вироби знаходяться в безпечному середовищі. Вторинне пакування передбачає собою коробку у яку буду поміщено біоімплантат [50].

2.2 Опис технологічного процесу

Запропонована технологія спрямована на досягнення ще більшої продуктивності та ефективності виробництва. У даному дипломному проєкті описана технологічна схема виготовлення біоімплантату аортального клапану. Кінцева форма біоімплантату аортального клапану має відповідати натуральному аортальному клапану.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						31
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДР1. Санітарна підготовка виробництва

Санітарна підготовка виробництва має забезпечити мінімальну кількість контамінантів у виробничому процесі: в поживному середовищі, технологічному аераційному повітрі на поверхнях обладнання, яке контактує з культуральною рідиною, забезпечення чистоти на виробничих ділянках де чистота та асептика пливають на якісні показники продукції. Також суттєво впливають на створення безпечних умов праці і охороні здоров'я працівників підприємства.

ДР 1.1. Приготування миючих та дезінфікуючих розчинів

Дезінфекцію проводять з метою знищення потенційно патогенних для людини мікроорганізмів та з метою усунення можливості контамінації продуктів. Приготування дезінфікуючих та миючих речовин проводиться за правилами техніки безпеки та відповідно до внутрішніх стандартних операцій і процедур. [53].

ДР 1.1.1. Приготування розчину миючого засобу

Для проведення обробки значних площ поверхонь обладнання та інвентарю, виробничих приміщень надають перевагу економічно вигідним та достатньо ефективним дезінфікуючим речовинам. Найбільше використовують «Біолот» та «Лотос». Готують відповідно до інструкцій виробника. [54]

ДР 1.1.2. Приготування дезінфікуючих розчинів

Хлорамін Б —бензосульфохлорамід натрію—білий кристалічний порошок, добре розчинний у воді (1:20), містить 25—29 % активного хлору (ВТУ 27/24—79—65). Водний розчин з масовою часткою хлораміну Б від 0,3 до 3% використовують для обробки боксів, прилеглих приміщень, виробничих приміщень, а в технологічних приміщеннях місць, куди потрапляють компоненти поживного середовища чи культуральна рідина. Хлор у складі хлораміну Б стійко зв'язаний з органічною основою, тому при правильному зберіганні хлорамін може протягом кількох років зберігати активний хлор. Хлорамін має бактерицидні, віруліцидні і спороцидні властивості, особливо в кислому і нейтральному середовищі. Водні розчини хлораміну Б не втрачають активний хлор протягом 15 днів, тому їх можна приготувати заздалегідь. [54]

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						32
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДР 1.2 Підготовка персоналу

Санітарна підготовка персоналу охоплює підготовку технологічного одягу, перевірка санітарного стану персоналу, підготовку дезінфекційних розчинів, навчання основам санітарії та принципам GMP [54]. Персонал має пройти інструктаж з охорони праці, техніки безпеки, також ознайомитися з пожежною та електробезпекою. Також має проводитись навчання персоналу спеціалістами з відділу охорони праці. Ведення протоколи інструктажів та раз на рік проведення повторних інструктажів.

ДР 2. Підготовка виробничих приміщень, обладнання та комунікацій

Підготовка виробничих приміщень проводиться відповідно до вимог протоколів. Дезінфекцію та прибирання проводять у декілька етапів вологе прибирання, дезінфекційна обробка, за 30 хв до початку та після закінчення роботи вмикають УФ-лампу для дезінфекції повітря у виробничих приміщеннях. Підготовку слід проводити у спеціальному одязі та засобах індивідуального захисту – гумових рукавичках, змінному взутті та гумовому фартусі, а також за необхідності використовують респіратор.

ДР 2.1 Стерилізація посуду та інструментів

Стерилізацію посуду та інструментів проводять в автоклаві, температура 120°C, 30-40 хвилин.

ДР 2.2 Стерилізація обладнання

Стерилізація обладнання відбувається за допомогою гострої пари, при температурі 110°C, тиск 0,2 МПа упродовж 1,5 години. З подальшим охолодженням упродовж 3,5 год.

ДР 3. Підготовка повітря

ДР 3.1 Забір повітря та попередня очистка повітря

У системі підготовки повітря використовується спеціальна шахта, через яку збирається зовнішнє повітря. Такі труби мають стандартну висоту 10 метрів та діаметр 30 см.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		33

ДР 3.2 Попередня очистка повітря

Попередня очистка проводиться за допомогою фільтра G-3, який здатний утримувати частки розміром більше 10 мкм з ефективністю 80-90%.

ДР 3.3 Фільтрування повітря

Повітря проходить спочатку через фільтр першого ступеню G-3, що може утримувати частки повітря розміром більше 1,5 мкм з ефективністю між 60% і 80% потім проходить через фільтр другого ступеня H-11, який здатний утримувати частки розміром більше 0,3 мкм з ефективністю 95%.

ДР 3.4 Стерилізація повітря

Для стерилізації повітря використовують ультрафіолетове випромінювання з довжиною хвилі 254 нм упродовж 40 хвилин.

ДР 4. Огляд та підготовка обладнання перед використанням

ДР 4.1. Підготовка 3D-біопринтеру

Перед початком 3D-біодруку необхідно перевірити наступне:

1) Вирівнювання платформи: поверхня має бути рівною. Тому, що якщо сопло знаходиться занадто далеко від столу, перший важливий шар не буде прилипати до поверхні і друк буде не можливим.

2) Покриття столу: поверхня має бути покритою підкладкою для друку, поліамідом або клейкою стрічкою. Також поверхня має бути очищеною.

3) Чистота сопла: необхідно перевірити чистоту і в разі його забруднення очистити.

4) Електроживлення: прогрів пристрою допоможе пришвидшити друк.

ДР 4.2. Калібрування 3D-біопринтеру

Точність 3D-принтера має першорядне значення для успіху. На точність 3D-принтера може вплинути кілька факторів; калібрування - один із них. Калібрування пластини 3D-принтера є першим кроком. Щоб забезпечити це, пластина повинна бути ідеально вирівняна. Іншими словами, пластина принтера повинна бути плоскою по відношенню до рухів сопла. Спочатку помістіть аркуш паперу між соплом і пластиною принтера. Потім перемістіть лоток вгору або вниз, стежачи за тим, щоб папір не застряг під соплом. Як тільки папір зможе

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						34
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

рухатися, злегка потираючись об сопло, можна переходити до наступної контрольної точки.

Температура друку 3D-принтера має важливе значення для виготовлення. Температурний діапазон, якого слід дотримуватися для друку, зазвичай вказується кожним виробником. Калібрування 3D-принтерів також вимагає перевірки точності їх вимірювань. Для цього можна за допомогою шматка рулетки відзначити на опорній плиті принтера дві ділянки на відстані 100 мм одна від одної. На одній з них розташуйте сопло і змусьте принтер переміститися на 100 мм в потрібному напрямку. Потім перевірити, чи знаходиться пристрій точно на стрічці [55].

ДР 5. Пре-процесинг

ДР 5.1. Виділення клітин

Для виділення МСК методом лізису еритроцитів використал 6 мл кісткового мозку (1 вакуумний контейнер на 6 мл). Загальну кількість вакууматора (6 мл) перенесли в конічну центрифугуючу пробірку об'ємом 50 мл і додавали буфер для лізису еритроцитів у пропорції 1:5. Пробірку перемішували вручну протягом 1 хвилини і негайно центрифугували протягом 5 хв при 480 g. Одразу ж після центрифугування верхній шар видаляли, а осад ресуспендували в 5 мл середовища RPMI 1640 і двічі промивали, використовуючи центрифугування в тих самих умовах (5 хв при 480 g) [56].

ДР 5.2. 3D-культивування клітин

ДР 5.2.1. Ресуспензія клітин

Matrigel розводили до 8 мг/мл крижаним фосфатним буферним розчином (PBS), рН 7,4. Попередньо охолоджені планшети для культивування (96-лункові та 6-лункові) покривали тонким шаром Matrigel, що не містить фенолового червоного, та інкубували протягом 20 хвилин при 37°C для утворення шару гелю на поверхні планшетів. МСК трипсинізували до суспензії одноклітинних клітин і гранулювали шляхом центрифугування при 800 об/хв протягом 5 хвилин..

МСК суспендували в матригелі при концентрації 1×10^6 клітин/мл [57].

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						35
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДР 5.2.2. Інкубація

Суміш клітин і матригеля додавали на попередньо вкриті пластини і додатково інкубували за 37°C протягом 30 хвилин, щоб матригель міг сформувати гель. Після до планшетів додавали відповідний об'єм безсіроваткового живильного середовища, яке змінювали кожні два дні.

ДР 5.3. Приготування біочорнил

Біочорнила для 3D біодруку, представлені в цьому дослідженні, були виготовлені з трьох різних матеріалів, а саме: SA альгінат, AG агароза та COL колаген. (0,1 г/мл) SA готували шляхом розчинення в культуральному середовищі та перемішування протягом ночі при 37 °С. AG (15 мг/мл) та SA змішували у співвідношенні 1:4 та перемішували в стерильних умовах при 65 °С за допомогою магнітної мішалки. До СА додавали розчин COL (15 мг/мл) і перемішували при 0 °С, потім використовували 1,5 М NaOH (Sigma, США) для встановлення рН = 7. Всі біочорнила зберігали в стерильних умовах при 4-8 °С [58].

ДР 5.4 Розробка 3D CAD моделі

Створення 3Д моделі виконується за допомогою CAD програмного забезпечення. У програмі SOLIDWORKS створюють файл у STL форматі.

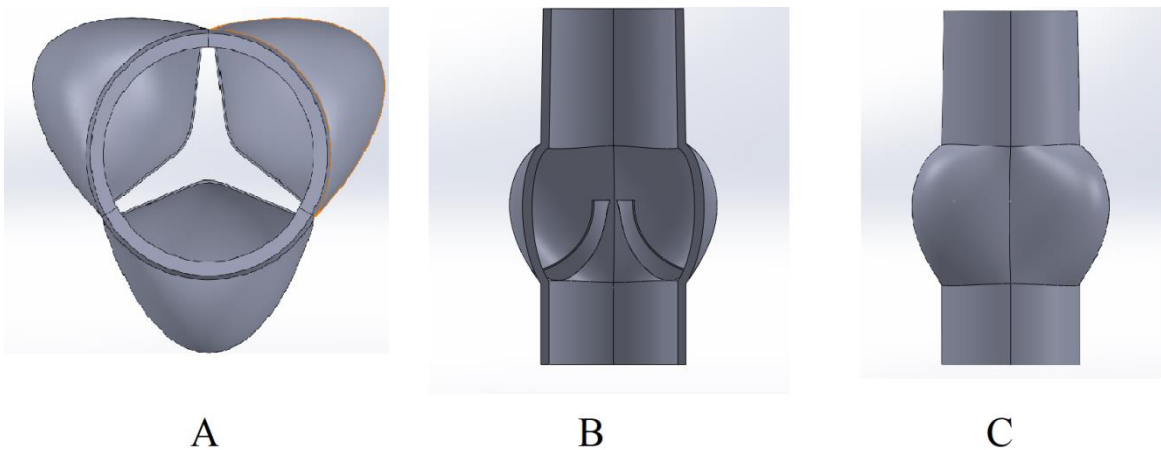


Рис.3- Креслення моделі аортального клапану (А- вигляд зверху; В- поперечний переріз; С-вигляд спереду)

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

ДР 5.5. Створення G-коду

Для створення G-коду використовується USB та програма для 3D-нарізки 3D-принтерів Slic3r, яка формує G-код із 3D CAD файлів. Також слід задати параметри друку, які будуть використовуватись:

- 0,8 мм ширина траєкторії,
- 0,7 мм висота траєкторії
- F=5 мм/с- швидкість друку.

ДР 5.6. Підготовка до 3D-біодруку

На цьому етапі застосовуються стерильні конічні насадки для біодруку 18G(800 мкм) та біопринтер. Підготовка до 3D-біодруку включає в себе налаштування параметрів друку, генерацію файлу формату та перевірка G-коду, стерильність обладнання, у разі потреби очищення біопринтеру, перевірку правильності розташування і налаштування принтеру та перевірка інших налаштувань, які можуть впливати на якість та точність друку.

ДР 5.7. Приготування суспензії клітин

Клітини ресуспендують у повному середовищі до кінцевої концентрації 10×10^6 клітин мл^{-1} . Ця клітинна концентрація згодом розбавляти при додаванні до агароза-альгінат-колагенової суміші до кінцевої концентрації 1×10^6 клітин мл^{-1}

ДР 5.8. Змішування біочорнил з суспензією клітин

Клітинну суспензію переносять у шприц для клітинної суспензії. Також для цього етапу потрібні шприц, що містить біочорнило. Поршень шприца з біологічним чорнилом потрібно потягнути назад і вставити шприц у дозуючий пристрій. Пристрій встановлюється вертикально за допомогою з'єднувача-фіксатора Luer lock догори. Поршень шприца з клітинами потрібно вітягнути назад на таку ж довжину, як і у шприца з біологічними чорнилами, і вставити його в дозуючий пристрій. Приєднайте обидва шприци до блоку змішування, закрутивши з'єднувачі з замком Luer. Заповнюємо систему змішування, натиснувши на дозуючий блок, щоб видалити повітря зі шприца. Зупиніть заповнення до того, як розчин досягне замка Luer. Після заливки потрібно

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						37
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

прикріпити наповнювальний картридж до кінця змішувального блоку через з'єднувач замка Luer. Та переконайтеся, що плунжер картриджа знаходиться внизу перед встановленням. Повільно натискаємо на дозуючий блок, щоб змішати біочорнило та клітинну суспензію в картриджі. Стерильним наконечником піпетки потрібно натиснути на плунжер у картриджі вниз, щоб після змішування контактувати з біочорнилом та клітинною суспензією. Закриємо картридж кришкою і обережно постукайте по робочій поверхні, щоб перемістити бульбашки повітря у верхню частину картриджа (кінець поршня).

ДР 5.9 Налаштування 3D-біопринтеру

Налаштування біопринтеру відбувається за допомогою USB з G-кодом, біопринтеру.

Відкрити G-код на біопринтері і встановити параметри біодруку, як показано нижче для друкуючих головок:

- Тип і розмір сопла: конічний наконечник, 18G(800 мкм)
- Тиск друку: 12 кПа
- Швидкість друку = 5 мм/с
- Температура друку - 37 °С

Тиск, який необхідний та оптимальна швидкість будуть залежать від температури навколишнього середовища та процедур підготовки (кількості та фактичної температури біочорнил). Кожного разу потрібно перевіряти тиск перед початком друку та у разі потреби регулювати швидкість, тиск під час друку.

ТП 6 3D-біодрук

Клітини культивували і 1×10^7 клітин/мл повторно суспендували в розчині SA, SA/AG або SA/COL відповідно. Два різних кінцевих співвідношення SA/AG та SA/COL (3:1 та 4:1) були використані для виявлення оптимізованих пропорцій, які дозволяли здійснювати тканинний друк. Клітинно-гідрогелеві суміші поміщали в екструзійні картриджі, які розміщували на друкарській каретці 3D-принтера для екструзії через 800 мкм голку V-подібного типу.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

ТП 7 Пост-процесинг

ТП 7.1. Зшивання

Процес зшивання біочорнил відбувається за допомогою іонів CaCl_2 . Занурте наповнені клітинами конструкції в зшиваючий розчин до 5 хвилин. Наступним потрібно дістати зшиваючий розчин і промити конструкції базальним живильним середовищем один раз.

ТП 7.2. Інкубація

Після зшивання та промивання додайте живильне середовище до конструкцій і помістіть в інкубатор. Інкубуйте конструкції в середовищі для культивування клітин стандартних умовах культивування: 37°C , 5% CO_2 і 95% відносної вологості.

ТП 7.3. Стерилізація

Клапани стерилізуються за допомогою рідких хімічних стерилізаторів на основі суміш антибіотик-антимікотик: 10000 мкг/мл стрептоміцину, 25 мкг/мл амфотерицину В, 10000 од/мл пеніциліну та упаковуються в герметичну пластикову банку.

Також застосовують УФ-опромінення при 160°C протягом 60 хвилин.

ПВ 8 Пакування, маркування

ПВ 8.1 Пакування

Пакування біоімпланту має забезпечувати зберігання без погіршення рівня чистоти, а також мінімізацію ризику їх мікробіологічної контамінації. Біоімплантат має бути упакований в одноразове пакування відповідно до процедур, які забезпечують їх властиві характеристики під час введення в обіг, зберігання і транспортування. Було вибрано підвісну раму з ізоляцією для первинного пакування алотрансплантатів. Це пакування забезпечує захист біоімплантату від різних температур і зменшує ударний шок під час транспортування та зберігання. Біоімплантат обгортають міцною плівкою і підвішують всередині спеціального каркасу. Підвісна плівка, що оточує алотрансплантати, може поглинати удари при зіткненні, створюючи таким чином

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						39
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

подушку повітря для руху алотрансплантатів, що забезпечить безпеку. Для вторинного пакування біоімплантату буде використана коробка, в яку він буде поміщений [50].

ПВ 8.2 Маркування

Біоімплантат повинен мати маркування, яке має бути чітким та розбірливим та відображати таку інформацію: опис біоімплантату; призначення біоімплантату; інформація про застосування за призначенням; інформація про стерильність виробу; дата виробництва; зазначення строку придатності для безпечної імплантації.

ТП 9 Контроль якості.

Контроль якості відповідає за відповідність продукції по кількісним та якісним характеристикам, а також виявлення дефектної продукції на ранніх етапах. Головною задачею контролю якості є забезпечення відсутності появи браку та дефектів.

ЗВ 10 Знешкодження відходів

Знешкодження відходів, які використовувались для мийних та дезінфікуючих засобів розбавляють водою водопровідною в 3-4 рази, за допомогою розчину їдкого натрію або HCl доводять рН до 7, а потім зливають у загальну каналізацію. Відходи даного виробництва належать до відходів типу В – епідемічно небезпечні медичні відходи (червоне маркування). За допомогою фізичного методу знезараження відходів проводиться обробка водним насиченим паром під надмірним тиском та температурою за допомогою зокрема автоклаву при температурі стерилізації не менше 150°C.

2.3 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Сировина, допоміжна сирована та матеріали є невід'ємною частиною виробництва і впливають на якість та функціональність кінцевого продукту. Їх якість має важливе значення для успішної реалізації виробничого процесу та отримання високоякісного продукту. Тому визначення вимог до якості сировини наведено у таблиці 2.3.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						40
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Таблиця 2.1- Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Найменування	Категорія та номер НТД, відповідно до якої перевіряються необхідні показники	Показники, обов'язкові для перевірки	Примітка
1	2	3	4
1. Основна сировина			
1.1 Кістковий мозок	МОЗ Порядок № 683/4904	Відповідно до вимог	Для отримання МСК
1.2 Середовище RPMI 1640	ДСТУ EN 12322:2015	pH 7.0-7.4	ПС
1.3 Matrigel	Кат. №07181	Гелеутворення при температурі від 10°C.	Для забезпечення умов клітинного росту
1.4 Безсироваткове живильне середовище	ISO 10993-5:2009	pH 7.2 - 7.4	ПС
1.5 SA- альгінат	ASTM F2150-07 (2007)	Відповідно до вимог	Входить до кінцевого продукту
1.6 AG-агароза	ASTM F2150-07 (2007)	Відповідно до вимог	Входить до кінцевого продукту
1.7 COL-колаген	Регламент комісії ЄС №853/2004	Відповідно до вимог	Входить до кінцевого продукту
1.8 NaOH	ДСТУ ISO 979-2001	Масова доля становить не менше 99%.	Для регулювання pH
1.9 Повне середовище	ДСТУ EN ISO 11133:2014	Відповідно до вимог	ПС
1.10 Іони CaCl ₂	ДСТУ 4725:2007	-	Для зшивання
2. Допоміжна сировина			
2.1 Повітря очищене	ISO 8573-1:2010	Кількість КУО не більше аніж 10 ⁻⁶ кл / м ³	Для аерації

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						41
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Продовження таблиця 2.1

2.2 Миючий засіб «Біолот»	ДСТУ 2972:2010	Відповідно до вимог	Для миття поверхонь та обладнання
2.3 Хлорамін Б		Відповідно до вимог	Для дезінфекції поверхонь
2.5 Буфер для лізису еритроцитів	ДСТУ 8145:2015	Відповідно до вимог	Для лізису еритроцитів
2.6 Крижаний фосфатний буферний розчин	ДСТУ 8145:2015	Відповідно до вимог	Для підтримки рівня рН
3. Матеріали			
3.1 Губки для миття	ДСТУ ISO 6916-1:2009	Зовнішній вигляд	Для миття поверхонь та посуду
3.2 Гумові рукавички	ДСТУ EN 420:2017	Зовнішній вигляд	Для персоналу
3.3 Гумовий фартух	ДСТУ EN ISO 13688:2016	Зовнішній вигляд	Для персоналу
3.4 Пробірка центрифужна 50 мл	ДСТУ EN ISO 13485:2018	Відповідно до вимог	Лабораторний посуд
3.5 Планшети для культивування	НК 024:2019 61298	Відповідно до вимог	Для культивування
3.6 Пробірки	ДСТУ ISO 1042:2005	Відповідно до вимог	Лабораторний посуд
3.7 Шприци	ДСТУ ГОСТ 24861:2009	Відповідно до вимог	Для 3Д-біодруку
3.8 Колба	ДСТУ ISO 1042:2005	Відповідно до вимог	Лабораторний посуд
3.9 Картриджі	ДСТУ EN ISO 15225:2015	Відповідно до вимог	Для 3Д-біодруку
3.10 Голка для друку	ДСТУ EN ISO 15225:2015	Відповідно до вимог	Для 3Д-біодруку
3.11 Пліка	ДСТУ 4260:2003	Зовнішній вигляд	Для пакування
3.12 Коробка	ДСТУ 7276:2012	Зовнішній вигляд	Для пакування

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						42
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2.4 Матеріальний баланс

Використання матеріального балансу дозволяє ефективно керувати виробничим процесом та забезпечити оптимальне використання ресурсів. Матеріальний баланс наведено у таблицях 2.2-2.8.

1.Складання інтегрального стехіометричного рівняння отримання мезенхімальних стовбурових клітин з еритроцитів:

1) Виділення МСК методом лізису еритроцитів:

Кістковий мозок + 5Буфер для лізису еритроцитів → Лізовані еритроцити.

2) Розведення Matrigel:

Matrigel + 8PBS → Розведений Matrigel

3) Суспензія МСК в Matrigel:

МСК + 9Розведений Matrigel → Суспензія МСК в Matrigel

4) Приготування біочорнил:

6SA альгінат + 6AG агароза + 6COL колаген → Біочорнило

5) Інкубація:

Конструкції + Середовище для культивування клітин.

6) Стерилізація:

Конструкція+ Антибіотик-антимікотик розчин.

1. Виділення Лізованих еритроцитів та суспензії МКС в Matrigel;

Таблиця 2.2.- виділення лізованих еритроцитів

Взято, мл	Отримано, мл
МКС, в тому числі:	Лізовані еритроцити: 1427мл
— білки.....20% =83,4г	Суспензія МСК в Matrigel: 4971,3 мл
— жири.....39% =162,6г	Видалений верхній шар:354 мл
— Ферменти.....5%=20,85г	Ендогенна вода: 1997,85мл
— Нуклеїнові кислоти:...9%=37,5г	CO ₂ : 342,5
— Вуглеводи.....8%=33,4г	
— Органічні речовини...16% =79,25г	
Буфер для лізису еритроцитів: 1627 г	

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		43

Продовження таблиці 2.2

Респондування осаду РРІМ....4935 мл	
З яких:	
Matrigel.....9,3 мл	
PBS..... 4925,7 мл	
Вода.....444 мл	
Кисень.....1659	
Разом:9082	Разом: 9082

2. Виготовлення біочорнил:

Таблиця 2.3 – виготовлення біочорнил

Взято, г	Отримано, г
SA альгінат:2199 г;	Готове біочорнило.....2745,4 г 1,5 NaOH1826,2г
AG агароза:471 г	
SA альгінат + AG агароза..... 2670,4 г;	
COL колаген: 75 г.	
1,5 NaOH1826,27г	
Разом:4571,67	Разом:4571,67

При виготовлення біочорнил, нам необхідно занурити нашу конструкцію в розчин CaCl₂ на п'ять хвилин після чого промити конструкції базальним живильним середовищем.

3. Зшивання:

Таблиця 2.4 - Зшивання

Взято, мл	Отримано, ммл
Готове біочорнило.....4571,67	Суспензія МКС: 6410 л
Лізовані еритроцити:.....1427мл	
Суспензія МСК в Matrigel:.....4971,3 мл	
Разом:6410	Разом:6410

Продовження таблиці 2.7

COL колаген.....75	
1,5 М NaOH.....1826,27	
Разом..... 4571,67	Разом.....4571,67

4. Зшивання

Таблиця 2.8 - Зшивання

Взято, мл	Одержано, мл
Готове біочорнило.....4571,67	Суспензія з МСК.....9543
Суспензія МСК в Matrigel ..4971,3	
Разом..... 9543	Разом.....9543

2.5 Контроль процесу виготовлення

Контроль процесу виготовлення є важливою складовою ефективного управління виробництвом та спрямований на забезпечення якості продукції. В представленій технології вважають критичними епати, що наведені у таблиці 2.9.

Таблиця 2.9 - Контроль процесу виготовлення

№ контрольної точки (назва стадії)	Об'єкт контролю та показник, що визначається	Метод контролю	Періодичність перевірки та порядок відбору проби	Нормативна характеристика показника, що визначається
ДР 1.1. Приготування миючих та дезінфікуючих розчинів Кт 1.1.2	Миючі властивості	Візуально, ваги, мірний посуд	Кожну операцію	Відповідно до норм
Кт 1.1.1	Концентрація етилового спирту	Мірний посуд, ваги	Кожну операцію	76%

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		46

ДР 2. Підготовка виробничих приміщень Кт 2.2	Температура, тривалість, тиск	Регулятор температур, годинник, манометр	Кожну операцію	110°C 1,5 год 0,2 МПа
Кт 2.1	Температура, тривалість стерилізації	Термометр, годинник, манометр	Кожну операцію	температура 120°C, 30-40 хвилин
ДР3. Підготовка повітря Кт 3.1	Довжина хвилі ультрафіолету, тривалість стерилізації	Ультрафіолет ова лампа, годинник	Кожну операцію	Довжина 260 нм, 40 хвилин
ДР 4. Огляд та підготовка обладнання перед використанням Кт 4.1	Якість підготовки друкувальної поверхні.	Візуально	Кожну операція	Відповідно до норм
Кт 4.2	Точність друку	Візуально	Кожну операцію	Відповідно до норми
ДР 5. Пре- процесинг Кт 5.1	Швидкість обертів, тривалість	Центрифуга	Під час процесу	480 об/хв, 5хв
ДР 5.2 3Д- культивування клітин Кт 5.2.1	Температура, час культивування, шв идкість обертів, тривалість	Термометр, годинник, центрифуга	Під час процесу	37°C , 20хв 800 об/хв, 5 хв
Кт 5.2.2	Температура, час	Термометр, годинник	Під час процесу	37°C , 30хв

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		47

Продовження таблиці 2.9

ДР 5.3. Приготування біочорнил Кт 5.3	Концентрація компонентів, температура, рН, температура зберігання	Магнітна мішалка, рН- метр	Кожну операцію	0,1 мг, 15 мг, 15мг температура 0°C, 37°C, 65°C рН=7, температура зберігання 4- 8°C
ДР 5.4 Розробка 3D CAD моделі Кт 5.4	3D-модель	Візуально	Під час процесу	Відповідно до вимог
ДР 5.5. Створення G- коду Кт 5.5	G-код	Візуально	Під час процесу	Синтаксична правильність G-коду
ДР 5.6. Підготовка до 3D-біодруку Кт 5.6	Температура друкуючої платформи, діаметр голки, Чистота робочої поверхні	Інфрачервоний термометр, візуально,	Кожну операцію	Температура 20°C, голка 22G, відповідно до вимог
ДР 5.7. Приготування суспензії клітин Кт 5.7	Концентрація суспензії	Гемоцитометр , мікроскоп	Кожну операцію	Концентрація 1×10^6 клітин мл^{-1}
ДР 5.8. Змішування біочорнил з суспензією клітин Кт 5.8	Якість отриманої суміші, рівномірне розподілення клітин в біочорнил	Механічне змішування	Під час процесу	Якість змішування, однорідність

Продовження таблиці 2.9

ДР 5.9 Налаштування 3D-біопринтеру Кт 5.9	Тип і розмір сопла , тиск друку, швидкість друку, температура друкуючої головки, друкарської платформи	USB з G- кодом, біопринтер	Кожну операцію	конічний наконечник, 800 мкм, 12 кПа, 5 мм/с, 20 °С
ТП 6 3D- біодрук Кт 6	Точність та відповідність імпланту до вимог 3D-моделі	Візуально	Під час процесу	Відповідно до вимог
ТП 7 Пост- процесинг Кт 7.1	Тривалість зшивання, якість	Іони CaCl ₂	Під час процесу	5 хвилин,
Кт 7.2	Температура, відносна вологість вміст CO ₂	Термометр, психрометр датчик CO ₂	Кожну операцію	37°С, 5% CO ₂ , 95% відносної вологості.
Кт 7.3	Температура, тривалість	УФ-лампа	Під час операції	160°С, 60 хвилин
ПВ 8 Пакування, маркування Кт 8.1	Наповнення	Візуально	Кожну операцію	Відповідно до вимог
Кт 8.2	Правильність маркування	Візуально	Кожну операцію	Відповідно до вимог
ТП 9 Контроль якості Кт 9	Мікробіологі чна чистота, колір та зовнішній вигляд	Висів на чашки Петрі, візуально	Кожну операцію	Контамінація відсутня, імплантат білого кольору

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		49

2.6 Стандартизація біомедичної продукції

Стандартизація біоімплантатів є важливим процесом, який допомагає забезпечити якість, безпеку та ефективність цих медичних виробів наведено у таблиці 11.

Таблиця 2.10 – Контроль якості

Показник контролю	Встановлені значення	Методи контролю
Опис	Має форму круглої або овальної пластинки з кільцем по периметру для кріплення в серці, білого кольору, без дефектів та механічних вкочень видимих неозброєним оком.	Візуально
Механічна міцність	Переміщення 1мм зі швидкістю 0,1 мм/хв.	Випробування на механічну міцність
Життєздатність клітин	2 мкМ розчином кальцеїн-ацетоксиметилу; 4,5 мкМ розчином йодиду пропідія	Лазерний скануючий мікроскоп
Кальцифікація	1:100	За допомогою мікроскопу
Апоптоз	Відповідно до інструкцій виробника	За допомогою мікроскопу

- Механічна міцність. Міцність на стиск надрукованих конструкцій аналізують за допомогою тестера міцності на стиск. Надруковані конструкції фіксували до приладу за допомогою металевого штифта, який прикріплював трансплантат до системи натягування випробувальної машини. Біомеханічне навантаження оцінюють після встановлення відповідних параметрів. Максимальне переміщення траверси становило 1 мм зі швидкістю 0,1 мм/хв [58].

- Життєздатність клітин. Для визначення життєздатності клітин використовували набір для визначення життєздатності живих/мертвих клітин відповідно до інструкції виробника. Конструкції тричі промивали PBS, забарвленим 2 мкМ розчином кальцеїн-ацетоксиметилу і 4,5 мкМ розчином

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		50

йодиду пропідія , захищеним від світла, при 37 °С протягом 5 хв. Потім тканини знову промивали PBS і спостерігали за допомогою лазерного скануючого мікроскопа для отримання зображення [58].

- Кальцифікації. Було використано флуоресцентний агент, який світиться у ближньому інфрачервоному діапазоні. Цей агент додавали до культурального середовища клітин у певній концентрації клітин у розведенні 1:100 і клітини інкубували протягом ночі при 37 °С, 5% CO₂ протягом 12 годин перед візуалізацією. Потім проводили візуалізацію, щоб побачити накопичення кальцію в клітинах [59].

- Для оцінки апоптозу використовували спеціальний тест, який базується на виявленні фрагментів ДНК під час програмованої клітинної смерті. Застосовували реагент, який забарвлює ці фрагменти, і проводили візуалізацію, щоб побачити клітини, які пройшли апоптоз [59].

Висновок до Розділу 2:

У даному розділі було детально розроблено технологію створення біоімплантату аортального клапану за допомогою 3D-біодруку з використанням біочорнил на основі агарози, колагену, альгілату та МСК, які були виділені з кісткового мозку. Було описано характеристику сировини та матеріалів, які використовувались при виготовленні біоімплантату. На завершальному етапі було розраховано матеріальний баланс, проаналізовано кількість та співвідношення використаних матеріалів і ресурсів під час процесу виготовлення біоімплантату, розроблено перелік заходів, які необхідно вжити для контролю якості виробництва та його стандартизації.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		51

РОЗДІЛ 3. АПАРАТУРНО-ІНЖЕНЕРНА ЧАСТИНА

3.1. Обґрунтування конструкції технологічного устаткування

Апаратурно-технологічна схема виготовлення імплантату для кардіохірургії включає в себе ряд основних процесів і допоміжних робіт, які забезпечують виготовлення кінцевого продукту. На кожному етапі виробництва використовуються різноманітні пристрої з різним спрямуванням і функціями. У таблиці 3.1 наведено специфікації основного обладнання.

Таблиця 3.1- Специфікація обладнання

№ з/п	Позначення на АС	Найменування апарату (приладу, інструменту)	Виробник	Основні характеристики	Кількість	Примітка
1	Ц-19, Ц-21	Центрифуга СМ- 3М.01	MICROmed, США	Розміри: 432x380x330 мм Маса: 18 кг Потужність: 90Вт Кількість пробірок: 6	1	
2	Ц-23	Центрифуга Sorvall ST16R	Thermo Fisher Scientific, США	Розміри: 60,5 × 44 × 36 см Маса: 25 кг	1	
3	I-26, I-42	Інкубатор INCU-Line IL	VWR, США	Розміри: 285×280×335 мм Маса: 8,3 кг Потужність 70 Вт	2	
4	P-33	Магнітна мішалка Magnetic Stirrers RET control-visc	ІКА, Німеччина	Розміри: 160 x 85 x 270 мм Маса: 2,7 кг Потужність: 650 Вт	1	

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		
						52

Продовження таблиці 3.1

5	Шп-36,37	Шприц Luer Lock	BD, США	Об'єм: 3мл	2	
6	П-40	Біопринтер Bio X	CELLINK, Швеція	Розміри: 480x440x355мм Маса: 18,4 Потіжність: 400Вт	1	
7	Д-1	Об'ємно-ваговий дозатор	FlexW15SM, Україна	Об'єм дози: 0,1-30 кг Матеріал: титан Потужність: 1кВт	6	
8	Р-2, Р-7	Реактор	Хіммікс, Україна	Матеріал: нержавіюча сталь Температура: 20 ° С- 160 ° С	2	
9	Н-3, Н-8	Насос відцентровий	Ортіма, Польща	Матеріал: сталь	2	
10	А-11	Автоклав	Tuttnauer , Ізраїль	Об'єм камери: 65л. Маса: 58 кг Розміри: 765 x 540 x 720	1	
11	ЗП-12	Повітрязабрник		З металевою сіткою	1	
12	Ф-13	Фільтр	Samfil, Щвеція	Матеріал: метал Ефективність 65-80%	1	
13	УФ-15	УФ	VastoSfera	Овжина хвилі: 254 нм	1	
14	К-14	Компресор	Vulkan, Китай	Маса: 37 кг Потужність: 1800 Вт Кількість обертів: 2850 об./хв	1	
15	Пр-17, Пр-20, Пр-22	Пробірка	Eppendorf SE, Німечинна	Об'єм: 50 мл	3	
16	КВ-16	Вакуумний контейнер	Chengdu Rich Science Industry Co., Ltd, Китай	Об'єм: 6мл Розмір: 13x100	1	

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

17	Кц-18	Колба для центрифугування	Eppendorf SE, Німеччина	Об'єм: 50 мл	1	
18	Пл-25,27	Планшет	ВІОplastics, Швейцарія	Розміри: 128x86x14 Кількість лунок: 96	2	

Для санітарної підготовки виробництва, а саме для приготування миючих та дезінфікуючих розчинів було використано об'ємно-ваговий дозатор має свої переваги, серед яких простота конструкції та експлуатації, а також висока надійність. Вони дозволяють точно дозувати різні інгредієнти в потрібному співвідношенні і, таким чином, забезпечують стабільну якість продукту. Також було використано реактор-змішувач має кілька переваг швидкість і якість змішування. Він дозволяє швидко і ефективно розчиняти інгредієнти, забезпечуючи однорідність і якість кінцевого продукту. Навіть низька температура навколишнього середовища не впливає на роботу реактора-змішувача, що робить його універсальним і ефективним в різних умовах. Використання реактора-змішувача з об'ємним дозатором у виробництві миючих та дезінфікуючих засобів дозволяє якісно і швидко змішувати інгредієнти, забезпечуючи стабільну якість і вихід кінцевого продукту.

Для стерилізації посуду та інструментів використовують автоклав D-line 3850 EL-D від Tuttnauer. Це ефективний метод стерилізації, особливо для інструментів та посуду, які потребують знищення всіх шкідливих бактерій. Цей процес відбувається при високих температурах понад 100 °C і тиску вище атмосферного. Мають численні переваги, які роблять їх ефективними для стерилізації. По-перше, підвищена ефективність процесу стерилізації забезпечує високу надійність знищення мікроорганізмів. Під час процесу стерилізації пара, що виділяється, легко проникає в найглибші шари матеріалу, дозволяючи повністю знищити всі мікроорганізми, включаючи бактерії, віруси і грибки.

Для підготовка повітря у лабораторії використовують повітрязбірник. Його основна функція - подавати повітря в лабораторію для відбору проб на вміст забруднювачів. Повітря проходить через фільтр, який очищає його від шкідливих

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						54
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

часток і домішок. Компресор використовується для забезпечення тиску повітря, необхідного для створення стисненого повітря. Це необхідно для деяких методів тестування, які використовують повітряні фільтри або інші газоподібні компоненти. УФ (ультрафіолетове) випромінювання використовується для стерилізації повітря у багатьох сферах, таких як медицина, лабораторії, харчова промисловість та інші. Для стерилізації повітря за допомогою УФ-випромінювання використовуються спеціальні УФ-лампи або УФ-системи. Ці пристрої генерують УФ-світло певної довжини хвилі, яке знищує мікроорганізми, такі як бактерії, віруси та грибки, у повітрі.

Основними етапами виготовлення біоімплантату є пре-процесинг, який включає виділення та 3Д-культивування клітин, власне 3Д-біодрук та пост-процесинг, який забезпечує зшивання, інкубацію та стерелізацію готової продукції.

Для виділення МСК методом лізису еритроцитів було використано центрифугу за допомогою, якої було розділено компоненти. Процес центрифугування відбувається у настільній центрифусі MICROmed CM-3M.01, що дозволяє використання з лабораторними пробірками об'ємом 50 мл. Ця центрифуга має мікропроцесорну систему управління, яка дозволяє контролювати процеси центрифугування та налаштовувати параметри роботи відповідно до вимог дослідження.

Під час 3Д-культивування клітин для ресуспензії клітин було використано ультрацентрифугу Sorvall ST16R від компанії Thermo Fisher Scientific, що підходить для роботи з планшетами та може досягати високих швидкостей обертання. Завдяки удосконаленій системі при управлінні ротором максимізує прискорення, гальмування і дисбаланс залишкового навантаження, що підвищує ефективність роботи центрифуги.

Процес культивування під час інкубації відбувається у інкубаторі VWR INCU-Line IL 10. Інкубатор має вбудований мікропроцесорний контроль, який забезпечує точність і стабільність температури в межах заданого діапазону, а саме

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						55
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

37 °C. Також важливим те, що нагрівальні елементи вбудовані в основу і стінки корпусу, що забезпечують стабільності і рівномірності температури.

Для процесу змішування біочорнил використовується магнітна мішалка Magnetic Stirrers RET control-visc від компанії ІКА. Завдяки вбудованій функції контролю температури дозволяє підключати температурний датчик, розміщений безпосередньо в середовищі, для контролю температури.

Змішування біочорнил з суспензією клітин відбувається за допомогою шприців об'єм 3 мл Luer Lock.

Процес 3D-біодруку відбувається за допомогою біопринтеру Bio X від компанії CELLINK. BIO X bioprinter забезпечує високу точність друку біологічних матеріалів. Він може контролювати розмір та форму друкуваного об'єкта з великою прецизією, що дозволяє отримувати деталізовані та високоякісні структури також має модульну конструкцію, що дозволяє легко замінювати та налаштовувати різні головки друку, шприци та інші компоненти [5].

Для інкубації готового продукту використовують інкубатор з такими умовами: 37°C, 5% CO₂ і 95% відносної вологості.

На завершальному етапі пакують за допомогою плівки та корбки.

3.2. Розробка схеми автоматизації технології виготовлення

Після аналізу функцій 3D-біопринтера, його апаратного оформлення та встановлених технологічних норм, виявилася необхідність досягнення високого рівня автоматизації процесу:

- контроль і регулювання нагрівання столу 37°C;
- контроль і регулювання нагрівання сопла 37°C ;
- контроль і регулювання «біочорнил»
- контроль і регулювання переміщення осей біопринтеру

Параметри контролю та регулювання виробництва наведено у табл.2.1.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		56

Таблиця 3.2 – Параметри контролю та керування виробництвом

№ пор.	Назва стадії процесу (технологічний об'єкт), місце заміру параметра	Назва контрольованого чи регульовального параметру	Норми технологічного режиму та допустимі відхилення	Вимоги до рівня автоматизації (контроль, регулювання, сигналізація)
1	2	3	4	5
1	Робочий термостіл	Температура	37°C	Контроль, регулювання
2	Кроковий двигун по осі X	Переміщення	-	контроль, регулювання
3	Кроковий двигун по осі Y	Переміщення	-	контроль, регулювання
4	Кроковий двигун по осі Z	Переміщення	-	контроль, регулювання
5	Трубка для чорнил	Витрата	-	контроль, регулювання
6	Сопло	Температура	37°C	контроль, регулювання

3.2.1 Опис розробленої схеми автоматизації

З метою досягнення ефективної роботи всього технологічного устаткування, підвищення продуктивності виробництва, поліпшення якості продукту, стабілізації, контролю та регулювання технологічних параметрів і мінімізації виникнення можливих помилок персоналу, була розроблена схема автоматизації, яка дозволяє вирішити усі ці завдання [60]. Зазначена схема автоматизації включає набір контурів автоматичного контролю та регулювання режимних параметрів технологічного процесу.

Для контролю та регулювання температури нагрівання столу та сопла було створено контури 4 та 5, що складаються з термоперетворювачів опору (поз. 4-1 та 5-1), приладів для вимірювання температури одноточкові реєструвальні (4-2, 5-2), регуляторів температури мікро-процесорних (4-3, 5-3), безконтактних магнітних пускачів (МП 4, МП 5).

Контроль та регулювання витрати біочрилу в картриджах виконуються за допомогою контура 6, який включає прилад для вимірювання витрати з дистанційним передаванням показань місцевий (6-1), показувальний і

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						57
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

реєструвальний мікропроцесорний прилад (6-2), позиціонер регулювального клапану (6-3) [61].

Контури 1,3,5 відповідають за переміщення по осях принтеру. Контури містить 3 двигуна М1, М2, М3, кожен з яких має пристрій для перетворення положення (датчик обертів) (1-1, 2-1, 3-1), показувальних і реєструвальних мікропроцесорних приладів (1-2,2-2,3-2), автоматичний мікропроцесорний прилад для керування положенням(1-3,2-3,3-3), та безконтактні магнітні пускачі(МП1, МП2, МП3).

Висновок до розділу 3:

Даний розділ присвячено апаратурно-інженерній частині виготовлення біоімплантату в кардіології методом 3Д-біоруку, а саме обґрунтування конструкції технологічного обладнання та розробці апаратурної схеми виробництва. Обґрунтування вибору конструкції технологічного обладнання включало аналіз процесу виготовлення біоімплантату та вибір оптимального обладнання. Окрему увагу приділено розробці схеми автоматизації технології виготовлення. Впровадження систем автоматичного контролю та управління технологічним процесом забезпечила розроблена схема автоматизації.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		58

РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ

4.1 Характеристика приміщення при виготовленні об'єкта

Приміщення, де виготовляють біосумісний імплантат аортального серцевого клапану, має бути сухою, добре освітлена, але при цьому світло не повинно бути надто яскравим, оскільки це може вплинути на роботу 3D-біопринтера. Необхідний достатній рівень природного та штучного світла. Лабораторія повинна бути достатньо великою для розміщення всіх необхідних приладів та обладнання. Підлога має бути вкритою лінолеумом, стіни мають бути пофарбовані у світлі кольори, адже світлі кольори роблять приміщення яскравішими та просторішими, відбивають більше світла і сприяють кращому освітленню. У таких приміщення вентиляція є важливою складовою. Необхідна як штучна так природна вентиляція.

У таблиці 4.1 наведено основні характеристики, предмети та обладнання, які необхідні для лабораторії.

Таблиця 4.1-Основні характеристики, предмети та обладнання

№	Найменування	Основні характеристики	Кількість	Позиція на рисунку
Приміщення				
1.	Розміри всього приміщення	3000x6000x3000; S=18 ; V = 54	-	-
2.	Кількість працівників	Науковий співробітник, лаборант	2	-
3.	Природне освітлення	Вікно Framex тристулкове поворотно-відкидне 2050x1400	1	7
4.	Штучне освітлення	ЛХБ, 80 Вт	4	-
5.	Двері	1200x2000	1	-
Обладнання та оснащення				
1.	3D-біопринтер CELLINK Bio X	Розміри в мм: 480x440x355 Матеріал корпусу: алюміній	1	4

Продовження таблиці 4.1

2.	Бокс біологічної безпеки 2 класу "БІОНОМ-МАХІ"	Розміри в мм: 1180х690х1010 Розміри робочої зони: 962х577х596 Матеріал: нержавіюча сталь, скло	1	9
3.	Холодильник лабораторний НУС-68 Haier	Розміри зовнішні, мм: 495×580×660 Розміри внутрішні, мм: 415×385×505 Матеріал: метал	1	1
4.	Ноутбук Acer Swift 3 SF314-511-713S	Intel Core i7-1165G7 / RAM 16 ГБ / SSD 512 ГБ Розмір: 14" (1920x1080)	1	5
5.	Стіл лабораторний пристінний СЛП-3.031.05	Розмір, мм: 1800×750×800 Матеріал: метал	2	3, 10
6.	Стілець лабораторний	Розмір, мм : 440×460×640, Матеріал: метал, тканина	2	6, 8
7.	Стіл-мийка лабораторна СМ-Н	Розмір, мм: 1200×900×620 Матеріал: нержавіюча сталь	1	11
8.	Шафа лабораторна ШЛ-1С для зберігання посуду та матеріалів	Розмір: 500×460×1800 Матеріал: каркас - метал; фасад - скло	1	2
9.	Пожежний сповіщувач диму та температури ДЕТЕСТО MLT 110	Розміри, мм: 110 х 110 х 52 Діапазон температур спрацьовування, клас А2: +54...+70 °С Діапазон температур спрацьовування, клас В: +69...+85 °С	1	12
10.	Вогнегасник	600х150х150	1	13

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		60

Таблиця 4.3 – Небезпечні і шкідливі фактори

Фізичні	Електронебезпека
Хімічні	Відсутні
Біологічні	Контамінація виробу та деградація матеріалу
Психіфізіологічні	Розумове навантаження

4.3 Електронебезпека

У лабораторії використовуються різноманітні електронні пристрої, які можуть потенційно створювати небезпеку для людей і оточуючого середовища. Забезпечення безпеки в роботі з електронними пристроями є важливим завданням для кожної лабораторії, оскільки це допомагає забезпечити безпечні умови праці, зберегти цінне наукове обладнання та знизити ризик потенційних негативних наслідків. Тому в таблиці 4.4 розглядаються фактори та наслідки електронебезпеки.

В таблиці 4.8 наведено порівняння нормативних значень, які були узяті згідно з ДБНВ.2.5-27-2006 та реальних значень факторів електронебезпеки.

Таблиця 4.4- Фактори та наслідки електронебезпеки

№	Найменування обладнання	Джерело небезпеки	Причини небезпеки	Наслідки небезпеки
1	ЗД-біопринтер	Мережевий кабель живлення	Неправильне підключення, пошкодження кабелю(пошкодження ізоляції)	Ураження електричним струмом, в наслідок чого можуть бути опіки, поранення, ускладнене дихання та порушення роботи серця
2	Бокс біологічної безпеки			
3	Ноутбук Acer Swift 3			
4	Холодильник лабораторний НУС-68 Haier			

Таблиця 4.5- Порівняння нормативних значень

№	Фактор небезпеки	Реальне значення	Нормативні значення
1	Змінний струм в мережевих кабелях живлення.	10 – 14 А	При впливі змінного струму з інтенсивністю 60 мА та тривалістю контакту в 1 секунду виникає збій в роботі серцевого м'язу

Приміщення має встановлені заходи безпеки для захисту від небезпеки ураження електричним струмом, які перераховані в таблиці 4.6.

Таблиця 4.6- Засоби і заходи захисту від електронезбезпеки

№	Група номенклатурних заходів з ОП	Вид заходу	Критерій вибору
1	Заходи технічні	Належна система заземлення, а саме використання заземлених розеток;	Ізоляція електричного струму
		Вимірювання опору ізоляції за допомогою тестеру –мегаомметру;	
		Використання пристроїв, що захищають від високої напруги та автоматичні вимикачі;	
		Перевірка належної ізоляції електроприладів, а саме перевірка цілісності кабелю та наявності пошкоджень.	
		Також ізоляція підлоги покриттям-лінолеум, що забезпечує шар від контакту людини з джерелом небезпеки.	
2	Заходи організаційні	Інструктажів з питань безпечного використання електричних пристроїв та у разі потреби проведення навчання(курсів).	Навчання з питань безпечного використання електроприладів
3	Заходи режимні	Не передбачається	-
4	Заходи експлуатаційні	Періодична перевірка та обладнання на наявність ознак пошкодження, при виявленні негайна заміна..	Контроль якості та працездатності
5	ЗІЗ	Не передбачається	-

4.4 Контамінація виробу та деградація матеріалу

У лабораторіях, що працюють з біологічними матеріалами, існує потенційна небезпека відносно обладнання, яке може стати джерелом біологічної небезпеки.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						63
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Неправильне використання обладнання може призвести до поширення патогенних мікроорганізмів, контамінації тощо. Умо зберігання регулюються Законом України “Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині” щодо біоімплантатів, ксеноімплантатів, медико-біологічних вимог до тварин, умов їх утримання, порядку вилучення у тварин анатомічних матеріалів для виготовлення ксеноімплантатів, Постановою КМУ від 24 лютого 2021 року №158.

Таблиця 4.7- Фактори та наслідки біологічної небезпеки

№	Найменування обладнання	Джерело небезпеки	Причини небезпеки	Наслідки небезпеки
1	Холодильник лабораторний	Термостатична частина	Порушення температурного режиму	Зміни фізичних властивостей матеріалів(деградація), вплив на життєздатність клітин, зростання ризику контамінації, зміни механічних властивостей біоімплантату, зниження його міцності та стабільності.

4.8- Порівняння нормативних значень

№	Фактор небезпеки	Реальне значення	Нормативні значення
1	Температура у термостатичній частині	4 °С	При температурі, яка є вища ніж 2°С - 8°С розпочинається контамінація виробу та деградація матеріалу.

Приміщення має встановлені заходи безпеки для захисту від небезпеки ураження біологічною небезпекою, які перераховані в таблиці 4.9.

Таблиця 4.9- Засоби і заходи захисту від електронезбезпеки

№	Група номенклатурних заходів з ОП	Вид заходу	Критерій вибору
1	Заходи технічні	Використання спеціально обладнання для зберігання, а саме лабораторні холодильники, які мають функцію точного регулювання температури.	Підтримка температурного режиму
		Система автоматичного регулювання температури, що забезпечує постійний контроль та підтримку заданого температурного режиму.	
		Належна ізоляція, що допомагає утримувати стабільну температуру. може бути покращена всередині за допомогою герметичних ущільнювачів силіконових.	
2	Заходи організаційні	Інструктажі з правильності зберігання біоімплантату та контролю температурного режиму. Проведення тренінгів з щодо процедур зберігання, моніторингу та реагування на відхилення	Навчання з питань безпечного зберігання біоімплантату
3	Заходи режимні	Регулярного моніторинг температури	Контроль та моніторинг
4	Заходи експлуатаційні	Періодична перевірка правильності функціонування холодильника, включаючи перевірку точності температурних вимірювань	Контроль якості та працездатності
5	ЗІЗ	Лабораторний одяг	Індивідуальний захист

Висновок до розділу 4:

В представленому розділі, було розроблено та оцінено приміщення лабораторії для виготовлення біоімплантату аортального клапану. Проаналізовано та оцінено небезпечні фактори, які можуть спричинити небезпеку під час роботи у лабораторії.

Також розглянено основні небезпеки: електронезбезпека та біологічна небезпека. Було описано соновні види заходів щодо цих небезпек, що допоможуть зменшити ризик створення небезпечних ситуацій. Для забезпечення безпеки персоналу та навколишнього середовища важливо розуміти ці небезпеки та вживати належних заходів обережності.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		66

ВИСНОВОК

1. На основі медико-біологічного обґрунтування можна сказати, що для виготовлення біоімплантату аортального клапану найперспективнішою є технологія з використанням передової методики 3D-біодруку, що дозволило точно відтворити геометрію та структуру аортального клапана. Основними матеріалами, які використовуються при виробництві біоімплантату, є біочорнила з агарози, колагену та альгінату. Ці матеріали мають високу біокомпатибельність і здатні сприяти регенерації тканин. Додатково, до складу біоімплантату можна включати стовбурові клітини, виділені з кісткового мозку людини.

2. На основі літературних даних та стандартних практик було розроблено технологічну схему виробництва кардіоімплантів методом 3D-біодруку на основі стовбурових клітин, яка не має аналогів в Україні.

3. Для запропонованої технології було підібрано технологічне устаткування, яке дозволить реалізувати процеси на високому рівні та розроблено схему автоматизації цих процесів.

5. Проведено аналіз матеріального балансу та отримано розрахунок про обсяги вхідних матеріалів та їх розподіл у виробничому процесі, що дозволяє виявити можливості для подальшої оптимізації та удосконалення виробничих процесів.

4. У роботі наведено аналіз можливих небезпек, як можуть виникнути під час виготовлення біоімплантату та розроблено рекомендації щодо їх усунення, спрямовані на запобігання та зниження ризиків для здоров'я та безпеки працівників.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
						67
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. T. Simon-Yarza, I. Bataille, D. Letourneur, Cardiovascular bio-engineering: current state of the art, J. Cardiovasc. Transl. Res. 10 (2017) 180–193.
2. Butcher JT, Mahler GJ, Hockaday LA. Aortic valve disease and treatment: The need for naturally engineered solutions. Adv Drug Deliv Rev. 2011;63:242–268.
3. Hinton RB, Yutzey KE. Heart Valve Structure and Function in Development and Disease. Annu Rev Physiol. 2011;73:29–46.
4. Virani S.S., Alonso A., Benjamin E.J., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P. Heart disease and stroke statistics-2020 update: a report from the American heart association. Circulation. 2020;141(9):e139–e596. [PubMed] [Google Scholar]
5. Riggs K.W., Zafar F., Radzi Y., Yu P., Bryant R., Morales D.L.S. Adult congenital heart disease: current early expectations after cardiac transplantation. Ann. Thorac. Surg. 2020;109(2):480–486. [PubMed] [Google Scholar]
6. Mori S, Tretter JT, Spicer DE, Bolender DL, Anderson RH. What is the real cardiac anatomy? Clin Anat. 2019 Apr;32(3):288-309
7. Wenn P, Zeltser R. Aortic Valve Disease. StatPearls . 2020 Mar 24
8. Tang, G.; Liu, Z.; Liu, Y.; Yu, J.; Wang, X.; Tan, Z.; Ye, X. Recent Trends in the Development of Bone Regenerative Biomaterials. Front. Cell Dev. Biol. 2021, 9, 1001.
9. C.M.B. Ho, S.H. Ng, Y.J. Yoon. A review on 3D printed bioimplants Int J Precis Eng Manuf, 16 (5) (2015), pp. 1035-1046.
10. Gott VL , Alejo DE , Cameron DE. Mechanical heart valves: 50 years of evolution. Ann Thorac Surg 2003;76:S2230–S2239.
11. Mokhles MM , Kortke H , Stierle U , Wagner O , Charitos EI , Bogers AJ , Gummert J , Sievers HH , Takkenberg JJ. Survival comparison of the Ross procedure and mechanical valve replacement with optimal self-management anticoagulation therapy: propensity-matched cohort study. Circulation 2011;123:31–38.
12. Head SJ , Kappetein AP. Aortic valve replacement in younger adults: a biological valve is not the logical choice. Eur Heart J 2016;37:2668–2670.

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		68

13. Brennan JM, Edwards FH, Zhao Y, O'Brien S, Booth ME, Dokholyan RS, Douglas PS, Peterson ED. Long-term safety and effectiveness of mechanical versus biologic aortic valve prostheses in older patients: results from the Society of Thoracic Surgeons Adult Cardiac Surgery National Database. *Circulation* 2013;127:1647–1655

14. Stuart J. Head, Mevlüt Çelik, A. Pieter Kappetein. Mechanical versus bioprosthetic aortic valve replacement 21 July 2017, Pages 2183–2191

15. Xiao Y, Wang H, Zhang T, Ren X. Psychosocial predictors of physical activity and health-related quality of life among Shanghai working adults. *Health Qual Life Outcomes*. 2019;17(1):72.

16. Are mechanical heart valves better than biological ones?

URL: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/302441#Which-valve-is-best-for-younger-patients>

17. Tissue and mechanical heart valves

URL: <https://andriestroebel.com.au/our-services/tissue-and-mechanical-heart-valves/>

18. Top 4 Companies Dominating the Global Aortic Valve Replacement Market, Fuelled by Increasing Cardiovascular Issues

URL: <https://www.expertmarketresearch.com/articles/top-aortic-valve-replacement-companies>

19. Henaine, R., Roubertie, F., Vergnat, M., & Ninet, J. Valve replacement in children: A challenge for a whole life. *Archives of Cardiovascular Diseases*, (2012). 105(10), 517–528.

20. How Blood Flows through the Heart

URL: <https://www.nhlbi.nih.gov/health/heart/blood-flow>

21. Câmara D.A.D., Shibli J.A., Müller E.A., De-Sá-Junior P.L., Porcacchia A.S., Blay A., Lizier N.F. Adipose Tissue-Derived Stem Cells: The Biologic Basis and Future Directions for Tissue Engineering. *Materials*. 2020;13:3210. doi: 10.3390/ma13143210.

22. Dai R.R., Yu Y.C., Yan G.F., Hou X.X., Ni Y.M., Shi G.C. Intratracheal administration of adipose derived mesenchymal stem cells alleviates chronic asthma in

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		69

a mouse model. BMC Pulm. Med. 2018;18:131. doi: 10.1186/s12890-018-0701-x.

23. Pati F, Ha D-H, Jang J, Han HH, Rhie J-W, Cho D-W. 2015 Biomimetic 3D tissue printing for soft tissue regeneration. Biomaterials 62, 164–175.

24. Guillotin, F. Guillemot. Cell patterning technologies for organotypic tissue fabrication. Trends Biotechnol. 29 (2011) 183–19

25. M.G. Yeo, G.H. Kim. A cell-printing approach for obtaining hASC-laden scaffolds by using a collagen/polyphenol bioink. , Biofabrication 9 (2017) 025004

26. Antoine EE, Vlachos PP, Rylander MN. Review of collagen I hydrogels for bioengineered tissue microenvironments: Characterization of mechanics, structure, and transport. Tissue Eng Part B Rev. 2014;20:683–96.

27. Parenteau-Bareil R, Gauvin R, Berthod F. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. Materials(Basel) 2010;3:1863–87.

28. Daly AC, et al. A comparison of different bioinks for 3D bioprinting of fibrocartilage and hyaline cartilage. Biofabrication 2016;8(4). 045002.

29. Duarte Campos DF, et al. Three-dimensional printing of stem cell-laden hydrogels submerged in a hydrophobic high-density fluid. Biofabrication 2012;5(1).

30. Деякі питання реалізації Закону України “Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині” щодо біоімплантатів, ксеноімплантатів.

URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/158-2021-п/ed20220317>

31. Hussein, N., Voyer-Nguyen, P., Portnoy, S. et al. Simulation of semilunar valve function: computer-aided design, 3D printing and flow assessment with MR. 3D Print Med 6, 2 (2020).

32. Jessop, Z. M., Gao, N., Manivannan, S., Al-Sabah, A., & Whitaker, I. S. 3D bioprinting cartilage. 3D Bioprinting for Reconstructive Surgery,(2018). 277–304.

33. Badylak, S. F.; Freytes, D. O.; Gilbert, T. W. Acta Biomater. 2009, 5, 1–13.

34. Ngangan, A. V.; Mcdevitt, T. C. Biomaterials 2009, 30, 1143–1149.

35. Zucheng Luo, Yujie Bian, Wenting Su, Li Shi, Shi Li, Yonghuan Song, Gang Zheng, Aiguo Xie, Jixin Xue. Comparison of various reagents for preparing a

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		70

decellularized porcine cartilage scaffold. 2019; 11(3): 1417–1427.

36. Marquez, S. P.; Martinez, V. S.; Ambrose, W. M.; et al. Acta Biomater. 2009, 5, 1839–1847

37. Xenotransplantation. Transplantation of Non-Human Cells, Tissues or Organs Into a Human.

URL: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/xenotransplantation>

38. Dangi A, Yu S, Luo X. Emerging approaches and technologies in transplantation: the potential game changers. Cell Mol Immunol. 2019 Feb 13

39. Hryhorowicz M, Zeyland J, Słomski R, Lipiński D. Genetically Modified Pigs as Organ Donors for Xenotransplantation. Mol Biotechnol. 2017 Oct. 59:435–444.

40. Revised Fact Sheet on Xenotransplantation.

URL: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-healthproducts/biologics-radiopharmaceuticals-genetic-therapies/activities/factsheets/revised-fact-sheet-xenotransplantation.html>

41. Vanaei, S., Parizi, M. S., Vanaei, S., Saleemizadehparizi, F., & Vanaei, H. R. (2021). An Overview on Materials and Techniques in 3D Bioprinting Toward Biomedical Application. Engineered Regeneration, 2, 1–18.

42. Gudapati, H., Dey, M., Ozbolat, I. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: Past, present and future. Biomaterials 102, 2016, 20–42.

43. Datta, P., Ayan, B., Ozbolat, I.T. Bioprinting for vascular and vascularized tissue biofabrication. Acta Biomater. 51, 2017a, 1–20.

44. Conev, A.; Litsa, E.E.; Perez, M.R.; Diba, M.; Mikos, A.G.; Kavraki, L.E. Machine learning-guided three-dimensional printing of tissue engineering scaffolds. Tissue Eng.-Part A 2020, 26, 1359–1368

45. Dianoosh Kalhori, Nima Zakeri, Mahshid Zafar-Jafarzadeh, Lorenzo Moroni, Mehran Solati-Hashjin, Cardiovascular 3D bioprinting: A review on cardiac tissue development, Bioprinting, Volume 28, 2022.

46. Maximilian Y. Emmert et al. Cell therapy, 3D culture systems and tissue engineering for cardiac regeneration Adv. Drug Deliv. Rev. (2014)

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		71

47. 3. Moroni L., Boland T., Burdick J.A., De Maria C., Derby B., Forgacs G., Groll J., Li Q., Malda J., Mironov V.A., et al. Biofabrication: A Guide to Technology and Terminology. Trends Biotechnol. 2018;36:384–402.

48. Alonzo M, AnilKumar S, Roman B, et al. 3D Bioprinting of cardiac tissue and cardiac stem cell therapy. Transl Res. 2019;211:64–83. doi: 10.1016/j.trsl.2019.04.004.

49. Du L, GhavamiNejad A, Yan ZC, Biswas CS, Stadler FJ, Carbohydr Polym 2018, 199, 58.

50. Bio-Implant Packaging: Custom Solutions, Advanced Medical Grade Materials

URL: <https://ufpmedtech.com/markets/allograft-packaging/>

51. M. Uemura, M. M. Refaat, M. Shinoyama, H. Hayashi, N. Hashimoto, and J. Takahashi, “Matrigel supports survival and neuronal differentiation of grafted embryonic stem cell-derived neural precursor cells,” Journal of Neuroscience Research, vol. 88, no. 3, pp. 542–551, 2010.

52. B.-J. Kang, H.-H. Ryu, S.-S. Park et al., “Effect of matrigel on the osteogenic potential of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells,” Journal of Veterinary Medical Science, vol. 74, no. 7, pp. 827–836, 2012.

53. Т. О. Чумаченко, М. В. Райлян, В. І. Макарова. Дезінфекція в практиці лікувально-профілактичних установ стоматологічного напрямку, 2021. – 32 с.

54. Ю.В. Карлаш. Основи проектування біотехнологічних виробництв, 2013.-143 с.

55. How to Calibrate Your 3D Printer Accurately

URL: <https://www.makeuseof.com/how-to-calibrate-your-3d-printer-accurately/>

56. Gudleviciene Z, Kundrotas G, Liudkeviciene R, Rascon J, Jurga M. Quick and effective method of bone marrow mesenchymal stem cell extraction. Open Med (Wars). 2015 Oct 8;10(1):44-49.

57. Lingjia Yu, Yuanhao Wu, Jieying Liu, Bo Li, Bupeng Ma, Yaqian Li, Zhenfei Huang, Yu He, Hai Wang, Zhihong Wu, Guixing Qiu 1 3D Culture of Bone Marrow-

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		72

Derived Mesenchymal Stem Cells (BMSCs) Could Improve Bone Regeneration in 3D-Printed Porous Ti6Al4V Scaffolds, 2018.

58. Xingchen Yang, Zhenhui Lu, Huayu Wu, Wei Li, Li Zheng, Jinmin Zhao, Collagen-alginate as bioink for three-dimensional (3D) cell printing based cartilage tissue engineering, Volume 83, 2018, 195-201.

59. Van der Valk DC, van der Ven CFT, Blaser MC, et al. Engineering a 3D-Bioprinted Model of Human Heart Valve Disease Using Nanoindentation-Based Biomechanics. Nanomaterials (Basel). 2018;8(5):296

60. Лукінюк М. В. Автоматизація типових технологічних процесів: технологічні об'єкти керування та схеми автоматизації [Текст] : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл., які навчаються за напрямом «Автоматизація і комп'ют.-інтегр. технології» / М. В. Лукінюк. – К.: НТУУ «КПІ», 2008. – 236 с. : іл. – Бібліогр.: с. 230–231. – 200 пр. – ISBN 978-966-622-287-2.

61. 3. Лукінюк М. В. Контроль і керування хіміко-технологічними процесами: У 2 кн. Кн. 2. Керування хіміко-технологічними процесами [Текст] : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл., які навчаються за напрямом: «Хімічна технологія та інженерія» / М. В. Лукінюк. – К.: НТУУ «КПІ», 2012. – 336 с. : іл. – Біблігр.: с. 331–332. – 300 пр. – ISBN 978-966-622-520-0. – ISBN 978-966-622-531-6 (Кн. 2).

					БФ9102.12.30.001 ПЗ	Арк.
Зм.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		73

ДОДАТОК А

СПЕЦИФІКАЦІЯ УСТАТКУВАННЯ, ВИРОБІВ І МАТЕРІАЛІВ для схеми автоматизації технологічного процесу здійснення 3Д-біодруку

Позиція на схемі	Назва параметра	Середовище, місце відбору інформації	Граничне значення параметра	Місце монтажу	Назва, технічна характеристика	Тип, марка моделі	Код	Завод-виробник	Кількість
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
КОНТРОЛЬ І РЕГУЛЮВАННЯ ШВИДКОСТІ ЕЛЕКТРОДВИГУНІВ М1, М2 ТА М3									
1-1	Швидкість	Вісь біопринтера з електродвигуном М1	—	Електродвигун М1	Багатообертовий датчик обертів (енкодер) “ <i>Sendix F3663</i> ”; вал: порожнистий до 15 мм, з виступом; кріплення: затискне, синхро (серво), <i>EURO</i> фланці, фланець/статор (пружинне кріплення); макс. швидкість, об/хв: до 12 000; температура довкілля, °С: -40...85; ступінь захисту: <i>IP67</i> ; розділова здатність, імпл./об: до 5000; інтерфейс: <i>SSI, BISS-C, SSI/BISS-C + RS422 (TTL)</i> , вихідний сигнал, мА: аналоговий 4...20	“ <i>Sendix F3663</i> ”		Завод « <i>Kübler Group</i> », м. Віллінген-Швайнінген, Німеччина	3 од.
2-1	Те саме	Вісь біопринтера з електродвигуном М2	—	Електродвигун М2					
3-1	— ” —	Вісь біопринтера з електродвигуном М3	—	Електродвигун М3					
1-2	— ” —	Вісь біопринтера з електродвигуном М1	—	Щит керування	Автоматичний показувальний і реєструвальний мікропроцесорний прилад ДИСК-250М; вхідні сигнали: 0...10 мВ, 0...100 мВ, 0...1 В, 0...5 мА, 4...20 мА; НСХ ТП – В, К, L, S, А-1; НСХ ТО – 50П, 100П ($W_{100} = 1,385; 1,391$), 50М, 100М; 0...10 мГн, ± 10 мГн (в комплекті з НП-П10); вихідні сигнали: $I_{вих} = 4...20$ мА, граничнодопустима основна похибка показань ±0,5 %, реєстрації ±1 %; $P_{вих} = 20...100$ кПа в комплекті з «ЭП 1324», інтерфейс <i>RS-485</i>	ДИСК-250М		ЗАТ «Промышленная группа «Метран», м. челябінськ, росія	3 од.

Продовження додатка А

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3-2	— ” —	Вісь біопринтера з електродвигуном М3	—	Те саме	Те саме	Те саме		Те саме	3 од.
1-3	— ” —	Вісь біопринтера з електродвигуном М1			Програмований регулятор МІК-127; кількість аналогових входів: до 4; $I_{\text{вх}} = 0 \dots 5$ мА, 0(4) ... 20 мА, кількість аналогових виходів: до 2; тип вихідного аналогового сигналу: $I_{\text{вих}} = 0 \dots 5$ мА, 0(4) ... 20 мА; основна наведена похибка формування вихідного сигналу: АО1: $\pm 0,2$ %; АО2: $\pm 0,4$ %	МІК-127		ВАТ «Підприємство «МІК-РОЛ», м. Івано-Франківськ	3 од.
2-3	— ” —	Вісь біопринтера з електродвигуном М2	—	— ” —					
3-3	— ” —	Вісь біопринтера з електродвигуном М3							
ЕЛЕКТРОАПАРАТИ									
МП1, МП2, МП3	—	—	—	Місцевий	Магнітний пускач безконтактний (на семісторах), реверсивний, для керування електричними виконавчими механізмами, у приводі яких використано трифазні електродвигуни; температура довкілля (-10) ... 50 °С, відносна вологість до 80 %; керувальний сигнал $U_{\text{вх}} = 24 \pm 6$ В, $U_{\text{жив}} = 380$ В, 50/60 Гц, $W_{\text{жив}} = 10$ В·А	ПБР-3М		ВАТ «Електроприбор», м.ч.ебоксари, росія	3 од.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
КОНТРОЛЬ І РЕГУЛЮВАННЯ ТЕМПЕРАТУРИ									
4-1	Температура	Біочорнило, трубопровід	35 °С	Трубопровід 29	Термоперетворювач опору ТСПУ-0288; діапазон вимірювання, °С: 0...50 °С; основна похибка, %: 0,5; напруга живлення, В: 12...36; робочий тиск, МПа: 25; 50 – у випадку застосування захисної арматури зі сталі 12Х18Н10Т; довжина монтажної частини L, м: 100, 120, 160, 200, 250, 320, 400, 630, 800, 1000	ТСПУ-0288		НВО «Електротермія», приладобудівний завод, м. Луцьк	2 од.
5-1	Те саме	Біочорнило, трубчатий електронагрівник	Те саме	ТЕН2					
4-2	— ” —	Біочорнило, трубопровід			Автоматичний показувальний і реєструвальний мікропроцесорний прилад із пристроєм сигналізації ДИСК-250М; вхідні сигнали: 0...10 мВ, 0...100 мВ, 0...1 В, 0...5 мА, 4...20 мА; НСХ ТП – В, К, L, S, А-1; НСХ ТО – 50П, 100П (W ₁₀₀ = 1,385; 1,391), 50М, 100М; 0...10 мГн, ±10 мГн (в комплекті з НП-П10); вихідні сигнали: I _{вих} = 4...20 мА, граничнодопустима основна похибка показань ±0,5 %, реєстрації ±1 %; P _{вих} = 20...100 кПа в комплекті з «ЭП 1324», інтерфейс RS-485	ДИСК-250М		ЗАТ «Промышлен-ная группа «Метран», м. Челябинськ, росія	2 од.
5-2	— ” —	Біочорнило, трубчатий електронагрівник	— ” —	Щит керування					
4-2	— ” —	Біочорнило, трубопровід			Програмований регулятор МІК-127; кількість аналогових входів: до 4; I _{вх} = 0...5 мА, 0(4)...20 мА, кількість аналогових виходів: до 2; тип вихідного аналогового сигналу: I _{вих} = 0...5 мА, 0(4)...20 мА; основна наведена похибка формування вихідного сигналу: АО1: ±0,2 %; АО2: ±0,4 %	МІК-127		ВАТ «Підприємство «МІКРОЛ», м. Івано-Франківськ	2 од.
5-2	— ” —	Біочорнило, трубчатий електронагрівник	— ” —	Те саме					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ЕЛЕКТРОАПАРАТИ									
МП4, МП5	–	–	–	Місцеві	Магнітний пускач безконтактний (на семісторах), реверсивний, для керування електричними виконавчими механізмами, у приводі яких використано трифазні електродвигуни; температура довкілля (-10)...50 °С, відносна вологість до 80 %; керувальний сигнал $U_{вх} = 24 \pm 6$ В, $U_{жив} = 380$ В, 50/60 Гц, $W_{жив} = 10$ В·А	ПБР-3М		ВАТ «Електроприбор», м.Чебоксари, р.осія	2 од.
HL1, HL2	–	–	–	Щит керування	Лампа сигнальна світлодіодна (LED) із зеленим індикатором (матриця); $W_{max} = 0,01$ Вт; $U_{ном} = 230$ В, 50 Гц; монтажна глибина ніші: 72,5 мм; кріплення на DIN-рейку	ЛС-47М		ІЕК Україна, м. Вишневе, Київська обл.	2 од.
КОНТРОЛЬ І РЕГУЛЮВАННЯ ВИТРАТИ									
6-1	Витрата	Біопаливо, трубопровід	0...0,5 м/с	Трубопровід 28	Ультразвуковий витратомір “SITRANS FS230”; точність вимірювання, ±%: 0,5...1 для швидкостей понад 0,3 м/с; відтворюваність, ±%: 0,25 (ISO 11631); вихідний сигнал, мА: 4...20; діаметр труби, м: 12,7...10; матеріал труби: сталь, пластик, алюміній, скло, цемент, ковкий чавун, мідь	“SITRANS FS230”		ДП «Сіменс Україна», м. Київ	1 од.

6-2	Те саме	Те саме	Те саме	Щит керування	Автоматичний показувальний і реєструвальний мікропроцесорний прилад із вбудованим ПІД-регулятором ДИСК-250М; входні сигнали: 0...10 мВ, 0...100 мВ, 0...1 В, 0...5 мА, 4...20 мА; НСХ ТП – В, К, L, S, А-1; НСХ ТО – 50П, 100П ($W_{100} = 1,385; 1,391$), 50М, 100М; 0...10 мГн, ± 10 мГн (в комплекті з НП-П10); вихідні сигнали: $I_{вих} = 4...20$ мА, граничнодопустима основна похибка показань $\pm 0,5\%$, реєстрації $\pm 1\%$; інтерфейс RS-485	ДИСК-250М		ЗАТ «Промышленная группа «Метран», м. челябінськ, росія	1 од.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
6-3	”	”	”	Місцевий	Позиціонер регулювального клапану з електрогідравлічним приводом “ <i>Samson 3274</i> ”; $I_{вх} = 4...20$ мА; $I_{вих} = 0(4)...20$ мА; $U_{вих} = 0(2)...10$ В, гістерезис: $\pm 3\%$, зміщення нульової точки: 0...100%; зміна діапазону: 30...100%	“ <i>Samson 3274</i> ”		“ <i>Samson AG</i> ” м. Франкфурт, Німеччина	1 од.
6-4	”	”	”	Трубопровід 28	Регулювальний клапан з електрогідравлічним приводом “ <i>Samson 3274</i> ”; номінальний хід: 15 або 30 мм; номінальний час перестановки: 60 с при 15 мм, 120 с при 30 мм, залежить від температури та необхідного зусилля перестановки; електричні підключення: 230 В, 110 В і 24 В, 50 або 60 Гц ($\pm 10\%$); припустима температура оточення: (-10)...60 °С (з обігрівом: (-35...60 °С); ступінь захисту: IP 65; електроніка електродвигуна: електромагнітні перешкоди згідно з DIN	Те саме		Те саме	1 од.

					VDE 0857				
КАБЕЛІ ТА ПРОВІДНИКИ									
	-	-	-	-	Кабель 4 × 1,5 мідний, діаметр 13,82 мм; ізоляція – пластикат полівінілхлоридний	КВБШ		ПАТ «Завод «Південкабель», м. Харків	450 м
МОНТАЖНІ ВИРОБИ									
	-	-	-	-	Коробка з'єднувальна вибухозахисного виконання, кількість вводів – 16; d = 18 мм	КСВ-11		ПАТ «Завод «Південкабель», м. Харків	4 од.
МАТЕРІАЛИ									
	-	-	-	-	Труби захисні для електропроводок сталеві, 26 × 1,6 (з муфтами БНМ 100)	БНТ 100		ПАТ «Південнотрубний завод», м. Нікополь	3 комп.