

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ  
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»**

**Факультет біомедичної інженерії  
Кафедра трансляційної медичної біоінженерії**

«На правах рукопису»

УДК 616.1-089.843-029:6](043.3)

«До захисту допущено»

В. о. завідувача кафедри

\_\_\_\_\_ Олександр БЕСАРАБ

(підпис)

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## **Магістерська дисертація**

зі спеціальності: 163 Біомедична інженерія, ОПП «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

на тему: «Розробка технічного файлу на медичний виріб – біосумісний імплантат для кардіохірургії»

Виконала: студентка 2 курсу, групи БФ-11мп

Паламарчук Юлія Василівна

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Науковий керівник к.т.н., ст. викл. каф. трансляційної медичної біоінженерії

Луценко Тетяна Миколаївна

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Рецензент к.т.н, с.н.с., доц. каф. біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

Маринченко Лоліта Вікторівна

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Засвідчую, що у цій магістерській дисертації немає запозичень з праць інших авторів без відповідних посилань.

Студент \_\_\_\_\_

(підпис)

Київ – 2022 року

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

Рівень вищої освіти: другий (магістерський)  
Спеціальність: 163 – Біомедична інженерія  
Освітньо-професійна програма «Регенеративна та біофармацевтична інженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ

В. о. завідувача кафедри трансляційної  
медичної біоінженерії

\_\_\_\_\_ Олександр БЕСАРАБ  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**на магістерську дисертацію студенту**  
**Паламарчук Юлії Василівні**  
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема дисертації Розробка технічного файлу на медичний виріб – біосумісний імплантат для кардіохірургії  
науковий керівник дисертації Луценко Тетяна Миколаївна, к.т.н., ст. викл.  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)
- затверджені наказом по університету від «09» листопада 2022 р. № 4133-с.
2. Термін подання дисертації здобувачем «12» грудня 2022 р.
3. Об'єкт дослідження: науково-практичні засади розробки технічної документації на біосумісний імплантат для кардіохірургії відповідно до вимог Технічного регламенту щодо медичних виробів № 753.
4. Предмет дослідження: інженерні, технологічні та медико-біологічні аспекти розробки технічної документації на біосумісний імплантат для кардіохірургії.
5. Перелік завдань, які потрібно розробити: розглянути способи обробки тканин тваринного походження для лікування серцево-судинних захворювань; створити, удосконалити та детально описати технологічну схему отримання біосумісного імплантату для кардіохірургії; обґрунтувати структуру та зміст технічного файлу на біосумісний імплантат для кардіохірургії відповідно

вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів № 753 та іншим міжнародним нормативним документам, що стосуються класу виробу.

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: презентація.

7. Орієнтовний перелік публікацій: Palamarchuk Y., Shchotkina N. Modern tissue engineering of bovine pericardium scaffold for using in cardiac surgery // Science and Technology of the XXI Century: Proceedings of the XXII International R&D Online Conference for Students and Emerging Researchers, 10 November, 2021. – К., 2021.Рр. 22-23. Part I. 160 p.

8. Дата видачі завдання: «01» вересня 2022 р.

#### Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Аналіз наукової літератури	01.09.2022 – 22.09.2022	
2	Огляд використання біосумісного імплантату на сьогодні	23.09.2022 – 09.10.2022	
3	Ознайомлення з нормативною документацією	10.10.2022 – 17.10.2022	
4	Розробка технологічної схеми виробництва	18.10.2022 – 31.10.2022	
5	Проведення аналізу ризиків	01.11.2022 – 08.11.2022	
6	Розробка інструкції до застосування	09.11.2022 – 20.11.2022	
7	Формування технічного файлу	21.11.2022 – 05.12.2022	
8	Отримання рецензії та відгуку	06.12.2022 – 08.12.2022	
9	Здача роботи на нормоконтроль	09.12.2022	
10	Захист дипломної роботи	19.12.2022	

Здобувач

\_\_\_\_\_

(підпис)

**Юлія ПАЛАМАРЧУК**

(ініціали, прізвище)

Науковий керівник дисертації

\_\_\_\_\_

(підпис)

**Тетяна ЛУЦЕНКО**

(ініціали, прізвище)

## РЕФЕРАТ

Магістерська дисертація складається з 73 сторінок, враховуючи 3 рисунки та 9 таблиць. Кількість використаної літератури становить 83 найменування.

Актуальність. Через розповсюдження серцево-судинних захворювань потрібно вивчати й створювати нові медичні вироби, які допоможуть подовжити і врятувати життя багатьом людям. Але для створення й поширення нового медичного виробу необхідно пройти певні етапи підготовки, на підставі яких видається сертифікат для випуску продукту у суспільство.

Мета роботи: науково-технічне та медико-біологічне обґрунтування структури та змісту технічного файлу на біосумісний імплантат для кардіохірургії.

Об'єкт дослідження: науково-практичні засади розробки технічної документації на біосумісний імплантат для кардіохірургії відповідно до вимог Технічного регламенту щодо медичних виробів № 753.

Предмет дослідження: інженерні, технологічні та медико-біологічні аспекти розробки технічної документації на біосумісний імплантат для кардіохірургії.

Наукова новизна. В Україні вперше проведено науково-технічне та медико-біологічне обґрунтування застосування біосумісного імплантату для кардіохірургії.

Практична цінність. Проведене науково-технічне та медико-біологічне обґрунтування структури та змісту технічного файлу на біосумісний імплантат для кардіохірургії буде взято за основу виробником медичних виробів ТОВ «ІКСПАНД» під час проходження процедури з оцінки відповідності.

Ключові слова: біосумісний імплантат, кардіохірургія, децеллюляризація, технічний файл медичного виробу, позаклітинний матрикс.

## ABSTRACT

The master's thesis consists of 73 pages, including 3 figures and 9 tables. The number of used literature is 83 items.

**Topicality.** Due to the spread of cardiovascular diseases, it is necessary to study and create new medical products that will help prolong and save the lives of many people. But in order to create and distribute a new medical product, it is necessary to go through certain stages of preparation, on the basis of which a certificate is issued for the release of the product into society.

**The purpose of the work:** scientific-technical and medical-biological substantiation of the structure and content of the technical file for a biocompatible implant for cardiac surgery.

**The object of the study:** scientific and practical principles of developing technical documentation for a biocompatible implant for cardiac surgery in accordance with the requirements of the Technical Regulation on medical devices No. 753.

**The subject of the study:** engineering, technological and medical-biological aspects of the development of technical documentation for a biocompatible implant for cardiac surgery.

**Scientific novelty.** For the first time in Ukraine, a scientific-technical and medical-biological justification of the use of a biocompatible implant for cardiac surgery was carried out.

**Practical value.** The conducted scientific-technical and medico-biological substantiation of the structure and content of the technical file for a biocompatible implant for cardiac surgery will be taken as a basis by the manufacturer of medical devices LLC "XPAND" during the conformity assessment procedure.

**Key words:** biocompatible implant, cardiac surgery, decellularization, technical file of a medical product, extracellular matrix.

**Публікації:** Palamarchuk Y., Shchotkina N. Modern tissue engineering of bovine pericardium scaffold for using in cardiac surgery. 10 November, 2021. – K., 2021.Pp. 22-23. Part I. 160 p.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....	8
ВСТУП.....	9
1. БІОСУМІСНИЙ ІМПЛАНТАТ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ХВОРОБ СЕРЦЯ.....	12
1.1 Матеріали для виготовлення біосумісного імплантату .....	12
1.2 Метод децелюляризації біосумісного імплантату.....	15
2. РЕГУЛЯТОРНА ІНФОРМАЦІЯ БІОСУМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ. СПИСОК ОBOB'ЯЗКОВИХ ВИМОГ .....	18
2.1 Представлення виробу на ринку .....	18
2.2 Класифікація виробу .....	19
2.3 Обов'язкові вимоги під час створення технічного файлу .....	20
3. АНАЛІЗ РИЗИКІВ ВИРОБНИЦТВА ІМПЛАНТАТУ .....	24
4. КРЕСЛЕННЯ, ДИЗАЙН І СПЕЦИФІКАЦІЯ ЯКОСТІ ІМПЛАНТАТУ .....	31
5. ХІМІЧНІ, ФІЗИЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ТЕСТИ ІМПЛАНТАТУ .....	35
5.1 Тестування <i>in vitro</i> .....	35
5.2 Біологічна оцінка біосумісного імплантату.....	37
5.3 Біологічна безпека тканини .....	37
6. КЛІНІЧНІ ДАНІ БІОСУМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ .....	42
7. ПАКУВАННЯ, МАРКУВАННЯ ТА ІНСТРУКЦІЯ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯ. УПАКОВКА І СТРОК ПРИДАТНОСТІ .....	47
7.1 Первинне пакування, маркування та вторинна упаковка.....	47
7.2 Коротка інструкція із застосування медичного виробу.....	48
7.3 Остаточне пакування. Обґрунтування терміну придатності та умов зберігання готового виробу .....	49

8. ВИРОБНИЦТВО БІОСІМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ .....	52
9. СТЕРИЛІЗАЦІЯ БІОСУМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ .....	60
10. ДЕКЛАРАЦІЯ ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ .....	64
ВИСНОВКИ .....	65
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	67
ДОДАТКИ .....	76
Додаток А. Технологічна схема виробництва біосумісного імплантату .....	76

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ССЗ	–	серцево-судинні захворювання
ПКМ, ECM	–	позаклітинний матрикс, extracellular matrix
ТС	–	технологічна схема
НТД	–	нормативно-технічна документація
DMEM	–	ростове середовище для культивування клітин
ДП	–	дочірнє підприємство
ДНК, DNA	–	дезоксирибозна нуклеїнова кислота
ТГЕ, BSE	–	трансмисивна губчаста енцефалопатія
КЕА	–	каротидна ендартеректомія
ПВХ	–	полівінілхлорид
СОП	–	спеціальна операційна процедура
ДСТУ	–	Державний стандарт України
ISO	–	міжнародний стандарт
SDS	–	додецилсульфат натрію
MES	–	2-морфоліноетансульфонова кислота
EDC	–	1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід гідрохлорид
NHS	–	N-гідроксисукцинімід
ОС	–	орган сертифікації
ООВ	–	орган оцінки відповідності

## ВСТУП

Актуальність теми. Протягом останніх десятиліть серцево-судинні захворювання (ССЗ) є основною проблемою смертності в усьому світі. Це становить близько 30 % всіх смертей, тобто 17,9 млн у рік [1]. Для дослідників, які працюють у сфері серцево-тканинної інженерії, є важливою необхідністю вибрати адекватну техніку ідеального біосумісного біорозкладного біоматеріалу для хірургії ССЗ. Нарешті, існує багато відповідних варіантів, які досягають мети інженерії серцевої тканини [2].

Розвиток тканинної інженерії запусив нову медичну інновацію для регенерації серця. Як одна з найвидатніших технологій, серцеві імплантати у вигляді матриксів мають потенціал для клінічного відновлення серцевої функції [3].

Саме завдяки розповсюдженню хвороб серця потрібно вивчати і створювати нові медичні вироби, які допоможуть подовжити й врятувати життя багатьом людям. Але для створення і поширення нового медичного виробу необхідно пройти певні етапи підготовки, на підставі яких видається офіційний дозвіл (сертифікат) для випуску продукту у суспільство.

На основі вже відомих, а також самостійно проведених досліджень по удосконаленню технології обробки тканини тваринного походження, потрібно створити технічну документацію, яка буде супроводжувати новий медичний виріб. Головним документом є технічний файл на будь-який медичний виріб, що створюється на основі нормативного документа – Технічний регламент щодо медичних виробів № 753.

Наразі, в Україні не існує будь-яких рекомендацій щодо біосумісного імплантату для кардіохірургії.

Об'єкт дослідження – науково-практичні засади розробки технічної документації на біосумісний імплантат для кардіохірургії відповідно до вимог Технічного регламенту щодо медичних виробів № 753.

Предмет дослідження – інженерні, технологічні та медико-біологічні аспекти розробки технічної документації на біосумісний імплантат для кардіохірургії.

Мета дослідження – науково-технічне та медико-біологічне обґрунтування структури та змісту технічного файлу на біосумісний імплантат для кардіохірургії.

Завдання:

- розглянути способи обробки тканин тваринного походження для лікування серцево-судинних захворювань;
- створити, удосконалити та детально описати технологічну схему отримання біосумісного імплантату для кардіохірургії;
- обґрунтувати структуру та зміст технічного файлу на біосумісний імплантат для кардіохірургії відповідно до вимог Технічного регламенту щодо медичних виробів № 753 та іншим міжнародним нормативним документам, що стосуються класу виробу.

Теоретична основа дослідження – державні, міжнародні стандарти та нормативно-правові акти, закони України, що призначені для медичних виробів тваринного походження, наукова фахова література у галузі біомедичної інженерії і біотехнології, матеріали з інтернет-джерел, патенти, матеріали конференцій та статті вітчизняних і закордонних фахових видань, у тому числі індексовані у базах даних, монографії, кандидатські та докторські дисертації, автореферати.

Наукова новизна одержаних результатів. В Україні вперше проведено науково-технічне та медико-біологічне обґрунтування застосування біосумісного імплантату для кардіохірургії.

Практичне значення. Проведене науково-технічне та медико-біологічне обґрунтування структури та змісту технічного файлу на біосумісний імплантат для кардіохірургії буде взято за основу складання документа виробником медичних виробів ТОВ «ІКСПАНД» під час проходження процедури з оцінки відповідності (довідка про використання додається).

Особистий внесок. Результати роботи, які викладено в магістерській дисертації, одержані автором особисто або за його безпосередньої участі. Планування експериментальної роботи проводилися спільно із науковими керівниками. Особисто автором описані результати досліджень, проведено їх аналіз та обговорення. Спільно із науковим керівником сформовано висновки.

Структура роботи. Дипломна робота складається зі вступу, десяти розділів, висновків, списку використаної літератури (83 найменування). Загальний обсяг становить 77 сторінок, з них 73 сторінки основного тексту. Робота має 3 рисунки, 9 таблиць та один додаток.

## 1. БІОСУМІСНИЙ ІМПЛАНТАТ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ХВОРОБ СЕРЦЯ

### 1.1 Матеріали для виготовлення біосумісного імплантату

ССЗ, такі як захворювання серцевого клапана, ішемічна хвороба серця та серцева недостатність є основною причиною захворюваності та смертності. Сучасні замітники клапанів уражених ділянок серця в основному включають механічні та біологічні протези клапанів (алотрансплантовані та ксенотрансплантовані клапани) [4, 5]. Механічні клапани викликають значні ризики тромбоемболічних ускладнень і потребують довічної антикоагулянтної терапії [6], а також їм не вистачає здатності до росту, відновлення та реконструкції, що накладає обмеження на їх тривале застосування в організмі людини [7-9]. Знижена доступність алотрансплантатів через дефіцит донорів залишається серйозною проблемою для лікування ССЗ. Аортальні клапани виготовлені зі тканин тваринного походження, наприклад, із тканини перикарда великої рогатої худоби чи свиней, не потребують після імплантації довічного лікування пацієнта антикоагулянтами, що могло б підвищити тривалість та якість життя пацієнтів, особливо дітей із вродженими вадами серця [10, 11].

Сучасна регенеративна медицина вдало поєднує дані фундаментальних досліджень і клінічної практики, що забезпечує великий потенціал для терапевтичного використання. Він заснований на відновленні або заміні тканин і органів, які мають структурну або функціональну недостатність, за допомогою синтетичних, біологічних і позаклітинних матриць [12]. Синтетичні матриці надають можливість модифікувати та контролювати структурні властивості, але не гарантують такої ж функціональності та не можуть досягти молекулярної та просторової організації, як нативна тканина [13].

Природні біополімерні каркаси та провідні наноматеріали широко використовуються в інженерії серцевої тканини; однак у виготовленні матриці все ще існують проблеми, які включають покращення доставляння поживних

речовин, біосумісності та властивостей, які сприяють росту, дозріванню та функціональності створеної тканини для терапевтичного застосування [14].

Тому перевага використання біологічних матеріалів у тканинній інженерії полягає у їх здатності розсмоктуватися в організмі з подальшим заміщенням клітинами тканини реципієнта. Однак значно вищий інтерес викликають матриці на основі природного позаклітинного матриксу (ПКМ, ЕСМ), що намагаються відтворити багатофакторні аспекти, тобто мікроархітекtonіку нативної тканини [15].

Матриці для інженерії серцевої тканини є тривимірними пористими структурами, що регенерують як м'які, так і тверді тканини, також імітують позаклітинний матрикс серця, з можливістю сприяють клітинному росту, міграції, диференціації та проліферації і застосовуються для доставлення ліків [2, 16-22].

Кардіохірургія серцево-судинних захворювань на основі серцевої матриці стала багатообіцяльною стратегією лікування більшості проблем серця. Вони призначені для кріплення до поверхні серця, тобто для латки ушкодженої частини серця. Сконструйований тривимірний кардіологічний матрикс складається з матриці біологічного матеріалу з/без клітин або індукованих факторів, який зазвичай виготовляється шляхом децелюляризації ПКМ, електроспінінгу, тривимірного друку, гідрогелів або шляхом укладання листів клітин. Ця матриця розроблена для імітації природного ПКМ. Особливого значення набувають серцеві матрикси, які виготовляються з тканини тваринного походження.

Серцевий імплантат-матрикс може забезпечувати механічну підтримку для заміни/регенерації тканин, запропонувати середовище, сприятливе для клітинної міграції, інтеграції, проліферації та диференціації для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, а також вмістити проникну структуру, яка забезпечує ефективну передачу поживних речовин і відходів.

Децелюляризований ЕСМ є перспективним біологічним матеріалом для відновлення серцево-судинної тканини. Децелюляризований ПКМ найбільш

ефективно зберігає багато компонентів, які містяться в природних тканинах, такі як білки, глікозаміноглікани та протеоглікани, забезпечуючи ідеальну підтримку для регенерації та відновлення пошкодженої частини серця. Децелюляризація – це процес видалення клітин із тканин або органів за допомогою детергентів, ферментів, та/або солі, зберігаючи при цьому склад, структуру, механізм і біологічну активність ПКМ. Децелюляризований ЕСМ можна використовувати в різних формах, починаючи від твердих каркасів, які зберігають природну судинну структуру, до желатинових каркасів, які потребують додаткового кроку, щоб здійснити розкладання структури ЕСМ. Останній є більш гнучким, ніж перший, і може бути виготовлений за допомогою тканинної інженерії [23, 24].

Оскільки джерело ПКМ різниться, як тканиною з якого його отримують (міокарда, перикарда або інших джерел, таких як підслизова оболонка тонкої кишки або сальник), так і видів організму (людина, миша, свиня), то результати багатьох досліджень показують, що джерело не таке важливе, як метод децелюляризації та функціональної модифікації при лікуванні ССЗ, хоча серцева специфічна децелюляризована ЕСМ вважається найефективнішим джерелом у відновленні серця.

Матрикси на основі децелюляризованого ПКМ відновлюють функцію серця, діючи безпосередньо або поверхнево забираючи клітини та/або інші біологічні матеріали, такі як стовбурові клітини або полімери (наприклад, хітозан, шовк, гелі). Імплантація лише децелюляризованих матриць, без додавання біологічних агентів, стимулює регенерацію кардіоміоцитів навіть після формування рубцевої тканини. Через 7 днів після трансплантації у децелюляризованому ЕСМ утворюється велика кількість клітин-господарів і різних типів кровоносних судин.

Хоча матрикси на основі каркаса забезпечують шаблон для структурної організації клітин, очікується, що вони деградують з часом і поступово будуть замінені новою матрицею після імплантації в серце [25-29].

## 1.2 Метод децелюляризації біосумісного імплантату

Останнім часом одним з найперспективніших біосумісних імплантатів є децелюляризований позаклітинний матрикс, який потім рецелюляризується аутологічними або стовбуровими клітинами. Етапи децелюляризації повинні ефективно видаляти імуногенні клітинні матеріали, при цьому підтримуючи неімуногенний ЕСМ, що наділений специфічними індуктивними або диференційними властивостями завдяки своїй архітектурі та біологічно активним факторам.

На сьогодні досліджено широкий спектр методів децелюляризації (табл. 1.2.1), але більшість з них засновано на застосуванні детергентно-ферментативної обробки [81].

Таблиця 1.2.1 – Методи децелюляризації перикарду великої рогатої худоби біомеханічних навантажень, *in vitro* рецелюляризації та *in vivo* імплантації ЕСМ у серце людини

Децелюляризація	Біомеханічні навантаження	<i>In vitro</i> рецелюляризація	<i>In vivo</i> імплантація
10 мМ Tris-HCl та інгібітори протеази + 0,1% SDS + 50 ОД/мл ДНКазі і 1 ОД/мл РНКазі	Одноосьове на розтяг	–	–
Гіпотонічні/гіпертонічні розчини + 1% SDS	–	–	Щури: ін'єкційні матричні гелі в стінку лівого шлуночка
0,1% SDS й інгібітори протеази + ДНКазі / РНКазі	Одноосьове на стиск та розтяг	Посів на гелеві каркаси клітин-попередників серця людини	Щури: навантажені клітинами каркаси в підшкірну клітковину
0.1% SDS + Triton X-100 + 0,1 мг/мл ДНКазі	На розтяг	Посів на каркаси ЕСМ/гідрогелю RAD16-I свинячих клітин-попередників медіастинального жиру	Свинячі моделі інфаркту міокарда: репопуляційні каркаси на ішемічному міокарді
Ацетон + Етанол + 1 Н NaOH + 7% NaCl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Одноосьове на механічну стійкість	–	Щури: децелюляризовані плями людського перикарда на черевній аорті

Крім того, нещодавні дослідження успішно перевірили метод децелюляризації на основі SDS та новий протокол, заснований на використанні менш традиційних хімічних агентів (наприклад, ацетону та етанолу). Усі ці процеси показали хорошу швидкість децелюляризації та повне видалення антигенів клітинної поверхні, не впливаючи на структуру ЕСМ.

Оскільки процес децелюляризації може вплинути на здатність ЕСМ стимулювати приєднання та проліферацію клітин, дослідження репопуляції клітин є ключовим кроком до створення функціональних серцево-судинних замінників [82].

Переваги децелюляризації:

- видалення імуногенних клітин;
- безклітинні природні ЕСМ;
- не впливає на структуру ЕСМ;
- стійкість тканини до деформації;
- висока еластичність та міцність тканини;
- нетоксичність;
- диференціювання кардіоміоцитів;
- використання як каркаса;
- висока біосумісність.

Основними перевагами методу децелюляризації є висока біосумісність, еластичність, міцність та нетоксичність біологічної тканини, яка імплантується в організм людини.

Недоліки децелюляризації:

- більшість процедур проводиться з фіксацією глутарового альдегіду;
- є ризик зараження або не приживання при неповній обробці тканини;
- застосування детергентно-ферментативних реакцій, що коштує дорого;
- досить тривала обробка.

До недоліків відноситься тривалість обробки тканини, складність і дороговартісність обраного способу отримання біосумісних імплантатів.

Таким чином, найбільш розповсюджений і безпечний метод лікування ССЗ є імпланти з тканин тваринного походження, які оброблено шляхом децелюляризації, оскільки вони є найбільш схожими до людського організму.

### Висновки до розділу 1

Описано можливі методи лікування серцево-судинні захворювання. Обрано найбільш дієвий та безпечний метод лікування розповсюджених серцево-судинних захворювань із застосуванням тканини перикарда великої рогатої худоби – це децелюляризація. Оскільки застосування глутарового альдегіду найчастіше призводить до кальцифікації імплантату, тоді у цьому випадку потрібно розглянути можливість його невикористання.

## 2. РЕГУЛЯТОРНА ІНФОРМАЦІЯ БІОСУМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ. СПИСОК ОBOB'ЯЗКОВИХ ВИМОГ

### 2.1 Представлення виробу на ринку

На цей час біосумісні імплантати для кардіохірургії мають доволі широкий спектр застосування у серцево-судинній, торакальній, загальній, урологічній та нейро-хірургіях. Найбільш розповсюдженим використанням є серцево-судинна хірургія. Наприклад, закриття міжпорожнинних внутрішньосерцевих дефектів; відновлення дефектів перегородки (вентрикулярної та передсердної), стулок; реконструкція передсердь і шлуночків, периферичних судин; подовження висхідної аорти; стентування; аннулопластика [30]. Тому саме з цими й іншими ССЗ допоможе справитись біосумісний імплантат для кардіохірургії.

Медичний виріб представляє квадрат або прямокутник із натуральної біологічної тканини тваринного походження – перикард великої рогатої худоби, що проходить певні стадії обробки перед використанням та запакований у блістер із полівінілхлоридної (ПВХ) плівки та фольги.

Біосумісний імплантат є еластичним, при цьому забезпечуючи біосумісність і працездатність. Завдяки м'якості та пластичності кардіоімплантат відповідає анатомічним особливостям людського організму і легко імплантується.

З біологічної тканини видаляються всі клітинні елементи міжклітинного матриксу. Це дозволяє біосумісному імплантату виступати у ролі матриці для заселення клітин реципієнта, трансформуватися та продовжувати виконувати свою роль в організмі людини.

Головною ознакою цього біосумісного імплантату, що відрізняє його поміж схожих виробів є те, що обробка біологічної тканини відбувається без глутарового альдегіду. Завдяки чому набагато знижується ризик відносно швидкої кальцифікації та цитотоксичності запропонованого медичного виробу.

Також важливо зазначити, що властивості біоматеріалу залишаються незмінними зі звичайно обробленим перикардом великої рогатої худоби за допомогою глутарового альдегіду.

## 2.2 Класифікація виробу

Біосумісний імплантат для кардіохірургії є медичним виробом, який імплантують. Згідно з додатком 2 п. 16 пп. 2 Технічного регламенту щодо медичних виробів №753 представлений імплантат є частиною III класу медичних виробів, оскільки використовується у безпосередньому контакті з серцем та центральною системою кровообігу.

Для проведення отримання оцінки відповідності технічному регламенту виробник повинен виконати зазначені умови – це:

1. Порядок проведення процедури забезпечення функціонування комплексної системи управління якістю; або
2. Порядок проведення перевірки типу у поєднанні з:
  - Порядок проведення перевірки продукції; або
  - Порядок забезпечення функціонування системи управління якістю під час виробництва медичних виробів.

Біосумісний кардіоімплантат успішно використовується для корекції набутих і вроджених вад серця (закриття дефектів міжпередсердної і міжшлуночкової перегородок), створення штучних трикуспідального, мітрального і аортального клапанів серця, протезування та пластики судин, стулок клапанів серця, тобто у серцево-судинних центрах для усунення дефектів судин у кардіохірургії та у хірургічних відділеннях загальної хірургії для усунення дефектів тканин.

У залежності від місця, куди потрібно імплантувати, існує 4 види розмірів – квадратний 5 см × 5 см і прямокутні: 3 см × 8 см, 6 см × 8 см і 6 см × 12 см. Разом із біосумісним імплантатом використовується шовний матеріал та спеціальні голки для проведення операції.

### 2.3 Обов'язкові вимоги під час створення технічного файлу

При проведенні і плануванні виходу нового медичного виробу на ринок потрібно у невідкладеному порядку дослідити і вивчити вимоги, що мають бути застосовані до певного виду продукції.

Оскільки біосумісний імплантат є медичним виробом III класу, тоді основним документом, на який необхідно спиратися при створенні такого продукту, є Технічний регламент щодо медичних виробів № 753 [32]. Цей регламент дає вказівки на створення мінімально важливих документів, що входять до складу технічного файлу для проходження процедури оцінки відповідності.

Особливо важливими стандартами для біосумісного імплантату також вважаються ДСТУ EN ISO 10993 і ДСТУ EN ISO 22442.

Серія стандартів 10993 відповідає за біологічне оцінювання медичних виробів для того, щоб можна було визначити характеристики нового біосумісного імплантату, і чи дійсно продукт перспективний.

Оскільки біосумісний імплантат виготовляється з біологічної тканини тваринного походження, тоді обов'язковою умовою є відповідність виробу серії документації 22442, що дає пояснення щодо медичних виробів, виготовлених із застосуванням тканин тваринного походження та їх похідних.

Застосування інших нормативних документів при написанні технічного файлу і проведення сертифікації зазначено у табл. 2.1.

Таблиця 2.1 – Перелік нормативної документації, що використовується при розробці технічного файлу на біосумісний імплантат

Позначення документу	Назва документу
ДСТУ EN ISO 10993-1:2018	Biological evaluation of medical devices Part 1. Evaluation and testing within a risk management process Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 1. Оцінювання і тестування в рамках процесу управління ризиками
ДСТУ EN ISO 10993-3:2018	Biological evaluation of medical devices Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 3. Випробування на генотоксичність, канцерогенність і репродуктивну токсичність
ДСТУ EN ISO 10993-4:2017	Biological evaluation of medical devices Part 4: Selection of tests for interactions with blood Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 4. Обирання тестів, взаємодіючих з кров'ю
ДСТУ EN ISO 10993-5:2015	Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 5. Випробування на цитотоксичність in vitro
ДСТУ EN ISO 10993-6:2016	Biological evaluation of medical devices Part 6: Tests for local effects after implantation Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 6. Випробування на локальні ефекти після імплантації
ДСТУ EN ISO 10993-9:2019	Biological evaluation of medical devices Part 9: Framework for identification and quantification of potential degradation products Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 9. Основні принципи якісного та кількісного аналізу потенційних продуктів деградації
ДСТУ EN ISO 10993-11:2017	Biological evaluation of medical devices Part 11: Tests for systemic toxicity Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 11. Випробування на системну токсичність
ДСТУ EN ISO 10993-16:2018	Biological evaluation of medical devices Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables Біологічне оцінювання медичних виробів. Частина 16. Побудова токсикокінетичних досліджень продуктів деградації та вилуговування
ISO 14971:2019	Medical devices – Application of risk management to medical devices Вироби медичні – Настанови щодо управління ризиком

Продовження таблиці 2.1

Позначення документу	Назва документу
ДСТУ EN ISO 22442-1:2020	Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives – Part 1: Application of risk management Вироби медичні, виготовлені із застосуванням тканин тваринного походження та їх похідних – Частина 1. Управління ризиками
ДСТУ EN ISO 22442-2:2020	Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives – Part 2: Controls on sourcing, collection and handling Вироби медичні, виготовлені із застосуванням тканин тваринного походження та їх похідних – Частина 2. Контроль отримання, збирання і обігу
ISO 22442-3:2007	Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives – Part 3: Validation of the elimination and/or inactivation of viruses and transmissible spongiform encephalopathy (TSE) agents Вироби медичні, виготовлені із застосуванням тканин тваринного походження та їх похідних – Частина 3. Перевірка елімінації та/або інактивації вірусів і збудників трансмісивної губкоподібної енцефалопатії (ТГЕ)
ISO 13485:2016	Medical devices – Quality management systems – Requirements for regulatory purposes Медичні вироби – Системи управління якістю – Вимоги до регулювання
ДСТУ EN 1041:2015	Information supplied by the manufacturer of medical devices Вироби медичні. Інформація, яку надає виробник
ДСТУ EN 980:2008	Symbols for use in the labelling of medical devices Символи графічні для маркування медичних виробів
ISO 11607-1:2019	Packaging for terminally sterilized medical devices – Part 1: Requirements for materials, sterile barrier systems and packaging systems Упаковка для остаточно стерилізованих медичних виробів – Частина 1. Вимоги до матеріалів, стерильних бар'єрних систем і систем пакування
ISO 11607-2:2019	Packaging for terminally sterilized medical devices — Part 2: Validation requirements for forming, sealing and assembly processes Упаковка для остаточно стерилізованих медичних виробів – Частина 2. Вимоги до перевірки процесів формування, герметизації та складання
Настанова з належної лабораторної практики та принципів біоетики	Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження»; Європейська конвенція про захист хребетних тварин (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8 <sup>th</sup> edition)
Настанова 42-01-2003	Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація
ДФУ	Державна фармакопея України
Ph. Eur.	European Pharmacopoeia 10 <sup>th</sup> Edition

## Висновки до розділу 2

У даному розділі показано використання біосумісного імплантату на ринку медичних виробів. Зроблено аналіз щодо класу ризику біосумісного імплантату й обрано необхідну процедуру проведення оцінки відповідності. Вказано застосовану нормативну документацію при складанні технічного файлу на біосумісний імплантат.

### 3. АНАЛІЗ РИЗИКІВ ВИРОБНИЦТВА ІМПЛАНТАТУ

Перед тим, як планувати виготовлення продукції під час технологічного процесу, необхідно проаналізувати та оцінити ризики, які можуть виникнути на виробництві. Оскільки відповідно до Технічного регламенту щодо медичних виробів, затвердженого постановою КМУ від 02.10.2013 р. № 753, імплантати належать до категорії виробів медичних, то при управлінні ризиками для забезпечення належної якості продукції у процесі виробництва необхідно спиратися на нормативний документ ДСТУ ISO 14971:2015 «Вироби медичні. Настанови щодо управління ризиком».

Оцінка ризиків дає можливість виявити критичні точки виробництва і складається з двох основних складових: ймовірність завдання шкоди і наслідки завданої шкоди, а саме ступінь тяжкості. Наступні основні питання повинні бути для загальної оцінки ризиків:

- які дії можуть бути неправильними?
- яка ймовірність неправильних дій?
- яка тяжкість неправильних дій?

У випадках ризику одним з інструментів контролю є використання методу системи аналізу ризиків і критичних контрольних точок (Hazard Analysis and Critical Control Point, HACCP). Це структурований підхід до виявлення, оцінки та контролю наслідків небезпек із застосуванням технічних та наукових концепцій, що призводить до виявлення планування, розробки, виробництва та застосування імплантатів. Основними етапами HACCP є аналіз небезпек, визначення критичних контрольних точок та їх моніторинг, визначення коректувальних дій. Після його застосування залишається інформація про управління ризиками, забезпечуючи моніторинг всіх стадій технологічного процесу виробництва.

Таким чином, основним моментом для оцінки ризиків є технологічний процес виробництва біосумісного імплантату. Технологічна схема (ТС)

отримання біосумісного імплантату наведена у додатку А. Тому проаналізувавши ТС, можна виділити наступні контрольні точки та відповідні їх очікувані ризики:

– підготовка виробництва: навчання персоналу, підготовка розчинів для дезінфекції та миття, лабораторного обладнання, посуду, виробничих приміщень, води та повітря є основними допоміжними етапами виробництва, тому погана початкова підготовка, тобто недотримання правил підготовки, може призвести до мікробної та/або хімічної контамінації (ризик  $R_1$ ):

– розчини для обробки біологічної тканини: на цій стадії ризики можуть бути пов'язані з неправильним дозуванням необхідних речовин, недотриманням інструкції по приготуванню того чи іншого розчину, що може призвести до мікробної та/або хімічної контамінації (ризик  $R_2$ );

– забір та транспортування біологічної тканини: на цій стадії ризики можуть бути пов'язані із неправильним забором біологічної тканини та недотриманням умов транспортування перикарда, що може призвести до мікробної та/або хімічної контамінації, а також пошкодження матеріалу та недоцільності його подальшого застосування (ризик  $R_3$ );

– підготовка перикарда: на цій стадії ризики можуть бути пов'язані з недотриманням правил технології підготовки перикарда та появою мікробного та/або хімічного забруднення (ризик  $R_4$ );

– обробка біологічної тканини: ризики даної стадії можуть бути зумовлені неправильним приготуванням розчинів для обробки біологічної тканини на етапі допоміжної роботи, недотриманням вказаних умов обробки та появою мікробної та/або хімічної контамінації (ризик  $R_5$ );

– фасування та маркування готового біосумісного імплантату: на цій стадії ризики можуть бути пов'язані з недотриманням маркування або переплутуванням готової продукції у блистерах (ризик  $R_6$ );

– стерилізація: ризик може бути пов'язаний із застосуванням підвищеної дози опромінення, не вказаної в інструкції або процедурі (ризик  $R_7$ );

– пакування, складання біосумісного імплантату: ризики на цій стадії пов'язані з некомплектуванням готової продукції і плутаниною з етикетками (ризик R<sub>8</sub>).

Відповідно до рекомендацій та особливостей виробленого продукту доцільно застосовувати якісний підхід до аналізу ризиків. Таким чином, матричний підхід N-M було обрано для опису вірогідності та серйозності ризику у кожній контрольній точці, як було вказано раніше (табл. 3.1). Всі рівні тяжкості розділяються на три види:

- значний (зворотна значна шкода);
- середній (зворотна незначна шкода);
- незначний (не призводить до шкоди).

Ймовірність виникнення шкоди також розділено на три категорії:

- високий (можливий, трапляється неодноразово);
- середній (можливий, але трапляється час від часу);
- низький (малоймовірний, трапляється рідко).

Таблиця 3.1 – Матриця ризиків виробничого процесу отримання біосумісного імплантату

		Якісні рівні тяжкості		
		незначний	середній	значний
Якісні рівні вірогідності	високий		R <sub>2</sub>	R <sub>4</sub> , R <sub>5</sub> , R <sub>7</sub>
	середній		R <sub>3</sub>	
	низький	R <sub>8</sub>	R <sub>1</sub> , R <sub>6</sub> ,	

Проаналізувавши дані таблиці вище, визначено, що найбільш критичними контрольними точками є підготовка перикарда до роботи, обробка біологічної тканини та стерилізація готових біосумісних імплантатів. Також до критичних етапів виробництва відноситься розчини для обробки біологічної тканини.

Для зниження вірогідності появи ризику необхідно приймати запобіжні заходи, а саме: виявлення та контроль таких параметрів технологічного процесу, які призводять до виробничого ризику. Перелік контрольних точок для найбільш критичних стадій наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Перелік контрольних точок виробництва біосумісного імплантату

Стадія та підстадія технологічного процесу	Контрольна точка	Параметр для контролювання	Нормативне значення параметру	Методи контролю і/або прилад	Періодичність контролю
ДР 2 Розчини для обробки біологічної тканини ДР 2.1 Розчин додецилсульфату натрію (SDS) 0,1%	Кт 2.1.1	Маса речовини SDS	1-1,5 г	Ваги	Кожного разу
	Кт 2.1.2	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ДР 2 Розчини для обробки біологічної тканини ДР 2.2 70 % розчин етилового та ізопропілового спирту	Кт 2.2.1	Об'єм води очищеної	300 мл	Мірний циліндр	Кожного разу
	Кт 2.2.2	Об'єм спирту 96 % або 99 %	700 мл		Кожного разу
	Кт 2.2.3	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ДР 2 Розчини для обробки біологічної тканини ДР 2.3 Фосфатний буфер	Кт 2.3.1	Кислотність	pH 7,4±0,1	pH-метр	Кожного разу
	Кт 2.3.2	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ДР 2 Розчини для обробки біологічної тканини ДР 2.4 Розчин для зшивання (крос-лінкінг)	Кт 2.4.1	Кислотність	pH 5,6±0,1	pH-метр	Кожного разу
	Кт 2.4.2	Концентрація MES	0,05 моль	Маса речовини, ваги	Кожного разу
	Кт 2.4.3	Концентрація EDC	10 ммоль		Кожного разу
	Кт 2.4.4	Концентрація NHS	10 ммоль		Кожного разу
	Кт 2.4.5	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 5 Підготовка перикарду ТП 5.3 Позбавляння від компонентів крові	Кт 5.3.1	Час	1-1,5 годин	Годинник	Кожного разу
ТП 5 Підготовка перикарду ТП 5.4 Заморозка	Кт 5.4.1	Температура	-20 °C	Термометр	Кожного разу
	Кт 5.4.2	Час	24 години	Годинник	Кожного разу
ТП 5 Підготовка перикарду ТП 5.5 Розморозка	Кт 5.5.1	Температура	20-24 °C	Термометр	Кожного разу

## Продовження таблиці 3.2

Стадія та підстадія технологічного процесу	Контрольна точка	Параметр для контролювання	Нормативне значення параметру	Методи контролю і/або прилад	Періодичність контролю
ТП 5 Підготовка перикарду ТП 5.5 Розморозка	Кт 5.5.2	Час	Не менше 10 годин	Годинник	Кожного разу
ТП 6 Обробка біологічної тканини ТП 6.1 Осмотичний шок	Кт 6.1.1	Температура	2-5 °С	Термометр	Кожного разу
	Кт 6.1.2	Час	24 години	Годинник	Кожного разу
	Кт 6.1.3	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 6 Обробка біологічної тканини ТП 6.2 Хімічний спосіб	Кт 6.2.1	Температура	2-5 °С	Термометр	Кожного разу
	Кт 6.2.2	Час	7 діб	Годинник	Кожного разу
	Кт 6.2.3	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 6 Обробка біологічної тканини ТП 6.3 Позбавлення токсинів	Кт 6.3.1	Температура	2-5 °С	Термометр	Кожного разу
	Кт 6.3.2	Час	7 діб	Годинник	Кожного разу
	Кт 6.3.3	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 6 Обробка біологічної тканини ТП 6.4 Фіксація та стабілізація	Кт 6.4.1	Температура	2-5 °С	Термометр	Кожного разу
	Кт 6.4.2	Час	12 годин	Годинник	Кожного разу
	Кт 6.4.3	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 6 Обробка біологічної тканини ТП 6.5 Відмивка	Кт 6.5.1	Температура	2-5 °С	Термометр	Кожного разу
	Кт 6.5.2	Час	24 години	Годинник	Кожного разу
	Кт 6.5.3	Кислотність	pH 7,4±0,1	pH-метр	Кожного разу
	Кт 6.5.4	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 6 Обробка біологічної тканини ТП 6.6 Зшивка (крос-лінкінг)	Кт 6.6.1	Температура	2-5 °С	Термометр	Кожного разу
	Кт 6.6.2	Час	12 годин	Годинник	Кожного разу
	Кт 6.6.3	Кислотність	pH 5,6±0,1	pH-метр	Кожного разу
	Кт 6.6.4	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 6 Обробка біологічної тканини ТП 6.7 Відмивка	Кт 6.7.1	Температура	2-5 °С	Термометр	Кожного разу
	Кт 6.7.2	Час	3 години	Годинник	Кожного разу
	Кт 6.7.3	Кислотність	pH 7,4±0,1	pH-метр	Кожного разу
	Кт 6.7.4	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично
ТП 9 Стерилізація біосумісного імплантату	Кт 9.1	Доза опромінення	20 кГр	Дозиметр	Кожного разу
	Кт 9.2	Стерильність	Стерильно	ДФУ 2.0, 2.6.1	Періодично

Повністю позбавитися ризиків за допомогою лише запобіжних заходів неможливо, але їх можна мінімізувати. Шляхи мінімізації ризиків під час виготовлення біосумісного імплантату наведено у табл. 3.3.

Таблиця 3.3 – Способи мінімізації ризиків біосумісного імплантату

Очікуваний ризик	Способи мінімізації
Недотримання правил підготовки до початку роботи	Проводити регулярні інструктажі (раз у тиждень); Перевіряти виконання правил відповідальній людині
Неправильне дозування необхідних речовин	Завчасно підготувати речовини у необхідній кількості – розфасувати; Перевіряти калібрування вагів
Недотримання інструкції із приготування розчинів	Зробити інструкцію простішою для розуміння; Виконати кроки з інструкції з відповідальною особою
Неправильний забір біологічної тканини	Зробити детальну інструкцію для скотобійні; Проводити регулярні навчання (раз у місяць); Призначити відповідальну особу для перевірки забору
Незадовільні умови транспортування	Перевіряти температуру, у якій транспортують біологічну тканину, за допомогою логеру, що буде записувати температуру середовища протягом всього шляху
Недотримання технології підготовки біологічної тканини до процесу обробки	Проводити інструктажі, семінари (раз у місяць); Призначити відповідальну особу для перевірки виконання технології
Недотримання необхідних умов під час процесу обробки біологічної тканини	Постійно перевіряти умови, у яких відбуваються етапи технологічного процесу; Призначити відповідальну особу, яка слідкуватиме за умовами
Недотримання маркування	Проводити перевірку номерів після запуску у виробництво кожної нової партії відповідальній особі; Бути присутній відповідальній особі під час присвоєння номеру
Переплутування готової продукції у блистерах	Постійно звіряти промарковані номери із номером, вказаному на блистері; Призначити відповідальну особу, яка буде перевіряти контрольні номери
Доза опромінення під час стерилізації	Вносити дані щодо дози опромінення після кожної стерилізації; Одна призначена відповідальна особа налаштовує дозу
Неповне комплектування готового продукту	Перевіряти комплектацію декілька разів
Мікробна та/або хімічна контамінація	Постійно обробляти поверхні й руки антисептичними засобами; Одягати спеціальний технологічний одяг

Мінімізація ризиків необхідна для того, щоб користь від використання переважала якомога більше ризику. Ці заходи призначаються для запобігання чи зменшення ймовірності розвитку побічної або непередбачуваної дії, пов'язаної із застосуванням біосумісного імплантату, або для зниження її серйозності у разі появи.

### Висновки до розділу 3

Проведено оцінку й аналіз ризиків. Сформовано запобіжні заходи для найкритичніших контрольних точок виробництва. Складено способи мінімізування ризиків.

#### 4. КРЕСЛЕННЯ, ДИЗАЙН І СПЕЦИФІКАЦІЯ ЯКОСТІ ІМПЛАНТАТУ

У виробничому процесі необхідні матеріали й сировина є найбільш впливовими факторами, які можуть представляти потенційну небезпеку якості готової продукції. Тому вони потребують обов'язкових попередніх перевірок для забезпечення відповідності необхідним належним стандартам. Особливу увагу варто приділити сировині, що має загальні характеристики та, відповідно, легку простежуваність контролю за нормативними документами. У будь-якому випадку повинні контролюватися всі етапи технологічного процесу, у тому числі перевірка якості вхідних матеріалів, робота персоналу та правильність виконання кожної стадії відповідно до інструкції або процедури технологічного процесу. Тому, що результатом може бути непомітний брак складової готового продукту, що понесе за собою значні економічні й репутаційні втрати, а також поставить під загрозу безпечність використання людиною.

Таблиця 4.1 – Характеристика сировини та матеріалів під час виготовлення біосумісного імплантату

Найменування	НТД, що регламентує показник якості	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
Перикард великої рогатої худоби	ДСТУ EN ISO 22442-2:2020 Державна служба України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів European Directorate for the Quality of Medicines	Відсутність енцефалопатії; безпека для людини; вік тварини – не старше 2-х років	Основне застосування
Н <sub>2</sub> O очищена	Монографія ДФУ 2.0, 2016. Т.2. С. 129	Кількість сухого залишку, ENO <sub>3</sub> , Al, важких Me, бактеріальних ендотоксинів, ECl, ESO <sub>4</sub> , ENH <sub>4</sub> ; фарбування Ca і Mg; мікробіологічна чистота – не більше 10 <sup>2</sup> в 1 мл	Складова ТС

Продовження таблиці 4.1

Найменування	НТД, що регламентує показник якості	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
H <sub>2</sub> O питна	ДСТУ 7525:2014 Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості	Мікробіологічні, вірусологічні, паразитологічні, мікологічні, органолептичні, хімічні та токсикологічні показники; рівень токсичності; радіаційна безпека згідно ДСТУ та нормам ДСанПіН 2.2.4-171	Складова ТС
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	ДСТУ 7356:2013 Молоко. Метод визначення пероксиду водню	Опис, кількісне значення, пакування, маркування, термін дії, паспорт постачальника; кількість ЕСІ, важких Ме, органічних стабілізаторів, As, Cu, Zn	Складова дезінфікуючих розчинів
Засіб миючий синтетичний	ДСТУ 2207.1-93 Засоби миючі синтетичні і речовини поверхнево активні. Методи визначення концентрації водневих іонів	Ті, що прописані у ДСТУ	Складова миючих розчинів
Ізопропанол 70 %	ДСТУ 7457:2013 Розчини водно-спиртові. Методи визначання вмісту етилового спирту	Об'ємна частка спирту – 70 %	Складова дезінфікуючих розчинів
Додецил сульфат натрію 92,5-100,5 %	Sodium dodecyl sulfate (SDS) 92.5-100.5 %, Sigma-Aldrich	Чистота – 200 відповідно ISO 9001; кількість Cl <sub>2</sub> , PO <sub>4</sub> , важких Ме	Складова для обробки біологічної тканини
Етиловий спирт 96 %	Монографія ДФУ 1.1, 2004. С. 339	Чистота: прозорість, кольоровість, кислотність або лужність, відносна й оптичні густини, леткі домішки	Складова для обробки біологічної тканини
Фосфатний буфер	PBS Tablets, Gibco	Наявність Ca та Mg; відповідність необхідному значенню рН – 7,4	Складова для обробки біологічної тканини
2-(N-морфоліно)-етансульфон. кислота	MES hydrate, Sigma-Aldrich	Чистота – 400 відповідно ISO 9001; ендотоксичні, мікробіологічні показники; відсутність Ме	Складова для обробки біологічної тканини
1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-карбодіїмід гідрохлорид	EDC 98 %, Sigma-Aldrich	Відповідно до складу і вимог виробника	Складова для обробки біологічної тканини

Продовження таблиці 4.1

Найменування	НТД, що регламентує показник якості	Показники, що обов'язкові для перевірки та їх нормативне значення	Примітка
N-гідроксисукцинімід	NHS, Thermo Scientific	Відповідно до складу і вимог виробника	Складова обробки біологічної тканини
Пакувальні блістери, етикетки на продукт	ДСТУ ISO 780-2001 Пакування. Графічне маркування щодо поводження з товарами	Вигляд; Наявність повного, правильного та розбірливого друку	Складова фасування та пакування
Коробки з гофрованого картону	ДСТУ ГОСТ 9142:2019 Ящики з гофрованого картону. Загальні технічні умови	Вигляд зовні, цілісність, маркування	Складова пакування
Фільтри повітряні	ДСТУ 3493-96. Системи вентиляційні. Фільтри повітряні. Типи і основні параметри	Пропускна здатність фільтру; швидкість проходження повітря	Складова підготовки повітря
Рукавички гумові технічні тип А чи В	ДСТУ EN 420:2017 Рукавички захисні. Загальні вимоги та методи випробування	Зовнішній вигляд, цілісність	Захисний одяг
Технологічний одяг	ДСТУ EN 14605:2017 Одяг захисний. Захист від рідких хімічних речовин. Вимоги до експлуатаційних характеристик одягу з непроникними до рідини (тип 3) або непроникними до спрею (тип 4) з'єднаннями та до предметів одягу для захисту частин тіла (типи PB [3] та PB [4])	Чистота, стерильність, захист відповідно до ДСТУ	Захисний одяг для працівників та виготовлення якісного виробу

Обов'язковою процедурою перед відправленням біосумісного імплантату до споживача є перевірка якості готової продукції. Таким чином, специфікація якості серцевого імплантату наведено у табл. 4.2.

Таблиця 4.2 – Специфікація якості готового біосумісного імплантату

Назва показнику	Норма	Контролювання
Необхідний розмір	5×5 см; 3×8 см; 6×8 см; 6×12 см	Вимірювання каліброваною лінійкою
Наявність ворсинок	Відсутні	Візуальний огляд

## Продовження таблиці 4.2

Назва показнику	Норма	Контролювання
Рівність імплантату	Рівний	Візуальний огляд
Наявність буферного розчину	Присутній у достатній кількості	Візуальний огляд
Наявність пошкоджень пакування	Відсутні будь-які пошкодження пакування	Візуальний огляд
Відповідність маркуванню	Відповідає	Перевірка всіх маркувань згідно з затвердженим макетом
Стерилізація	Відсутні тканини зі зміненим кольором	Візуальний огляд
Комплектування готового виробу (інструкція, температурний логер, листи імплантації, біосумісний імплантат)	Наявність усіх складових	Візуальний огляд; остаточна перевірка складових

Розмір біосумісного імплантату залежить від замовника, але він має бути чітко у межах допустимих розмірів.

## Висновки до розділу 4

Сформовано властивості та характеристики вихідної сировини та матеріалів, які застосовуються під час виробництва біосумісного імплантату. Складено показники контролю якості біосумісного імплантату.

## 5. ХІМІЧНІ, ФІЗИЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ТЕСТИ ІМПЛАНТАТУ

Одним із найважливіших кроків впровадження будь-якого медичного виробу у клінічну практику є проведення доклінічних випробувань: тестування *in vitro*, тестування *in vivo*, біологічна оцінка. Особливістю дослідження біосумісного імплантату є його біологічний матеріал, який має пройти додаткову перевірку на біологічну безпеку для тканин тваринного походження.

Під час тестування медичного виробу необхідно дотримуватися загальних правил, які зазначено у нормативних документах. Перш за все, стандарт ДСТУ EN ISO 10993 «Біологічне оцінювання медичних виробів», а також ДСТУ EN ISO 22442 «Вироби медичні, виготовлені із застосуванням тканин тваринного походження та їх похідних».

### 5.1 Тестування *in vitro*

Для проведення оцінки цитотоксичності зразки біосумісного імплантату культивували в суспензії фібробластів людини. З отриманого матеріалу вирізали по 5 фрагментів кожного зразка (приблизно 8-10 мм<sup>2</sup>). Клітини інокулювали шляхом нанесення 150 мкл концентрованої клітинної суспензії ( $3 \times 10^5$ ) на зволожені стандартним ростовим середовищем (DMEM + 10 % сироватки) децелюляризовані зразки перикарда. Просочення тривало 30 хвилин. Потім клітини переносили у стандартний 6-лунковий планшет для культури тканин і занурювали в середовище росту DMEM + 10 % сироватки. Культивування проводили за стандартних умов 37 °C і 5 % CO<sub>2</sub>.

Для гістологічного дослідження зразки біосумісного імплантату фіксували у 10 % забуференому формаліні, залитому парафіном. Робили зрізи розміром 5 мкм. Було отримано зразки, пофарбовані гематоксиліном/еозином (світлова мікроскопія) за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX 51 (Токіо, Японія).

Біомеханічні показники біосумісного імплантату розміром 2 см × 4 см було проаналізовано за допомогою спеціального обладнання – розривна машина MX2 Motorized Test Stands модель MX2-110 (рис. 5.1.1).

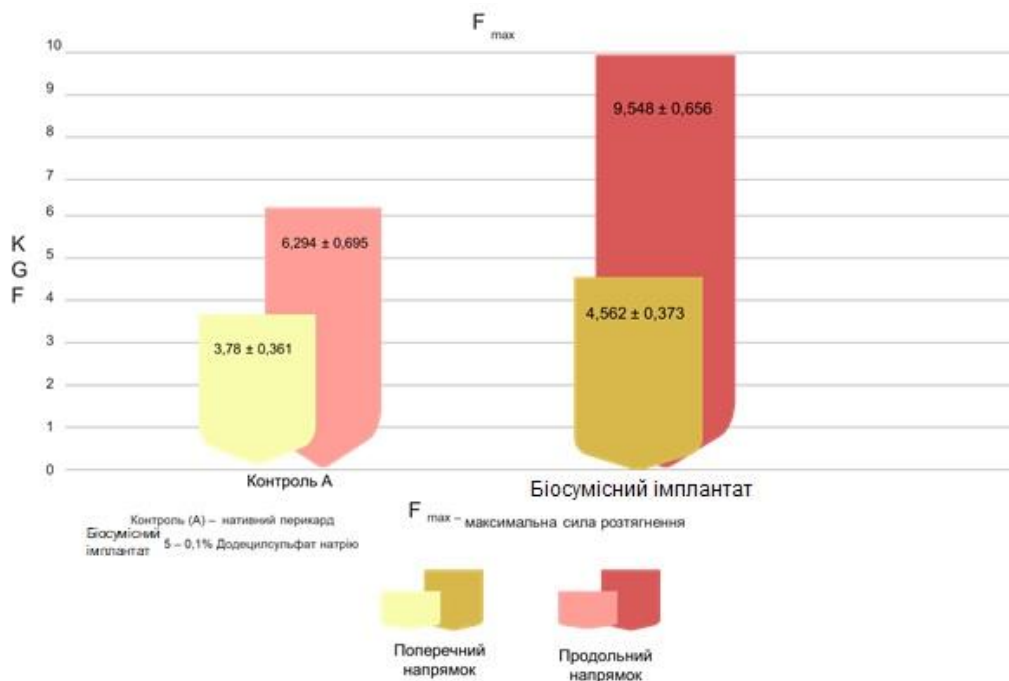


Рисунок 5.1.1 – Біомеханічні показники нативного перикарду та біосумісного імплантату [45, 46]

Можна побачити, що біосумісний імплантат має високі пружно-міцності властивості, що майже у 1,5 рази вищі за нативний перикард.

Результати випробувань на розрив доводять можливість зразків виробів витримувати середнє навантаження 5,32 кг.

За даними літературних джерел аналогічні вироби мають витримувати максимальне навантаження – від 15 до 40 Н.

Таким чином, доведено, що біомеханічні властивості медичного виробу має показники, які відповідають кращим практикам та витримують

навантаження в допустимих межах, що забезпечує їх достатню міцність при хірургічному втручанні.

## 5.2 Біологічна оцінка біосумісного імплантату

За протоколом доклінічних випробувань наданим ТОВ «ІКСПАНД», що видано ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки ім. академіка Л. І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», було проведено низку досліджень:

- санітарно-хімічні дослідження;
- випробування на системну токсичність (гостра системна токсичність);
- випробування на пірогенність;
- випробування на подразнення;
- випробування на сенсибілізацію.

Відповідно до кожного типу проведеного дослідження можна зробити висновки.

За санітарно-хімічними дослідженнями рівні міграції шкідливих речовин у воду зі зразків не перевищували гігієнічних регламентів в межах чуттєвості аналітичних методів.

Надані зразки не викликають змін в організмі піддослідних тварин, тобто не викликають гострої системної токсичності при одноразовому внутрішньочерепному введенні.

Пірогенна реакція на подані зразки відсутня – є апірогенними.

Біосумісний імплантат не викликає подразнення шкіри (еритеми, набряку, струпу, лущення, висипів, виразок, некрозу) в експериментальних тварин.

Під час перевірки зразків на сенсibilізацію наявність еритеми, набряку, струпу та інших пошкоджень шкіри на місці провокаційної проби експериментальних тварин не встановлено. Отже, біосумісний імплантат не викликає сенсibilізації.

Дослідження на наявність залишків нуклеїнових кислот протягом виготовлення біосумісного імплантату (рис. 5.2.1). Екстракцію ДНК проводили за допомогою набору Easy Blood and Tissue DNA kit (Qiagen, Німеччина). 10-25 мг тканини із зовнішніх матеріалів перед децелюляризацією або з децелюляризованих зразків короткочасно обробляли протеїназою К для кількісного визначення загальної кількості нуклеїнової кислоти (нг/мг сухої тканини) і відсотка видалення ДНК після децелюляризації. Вимірювання флуоресценції (фотонів за секунду) проводили при кімнатній температурі (23-24 °С) за допомогою спектрофлуорометра Qubit 3.0. Межа виявлення ДНК становила 0,2 нг/мкг нуклеїнової кислоти [30, 45, 46].

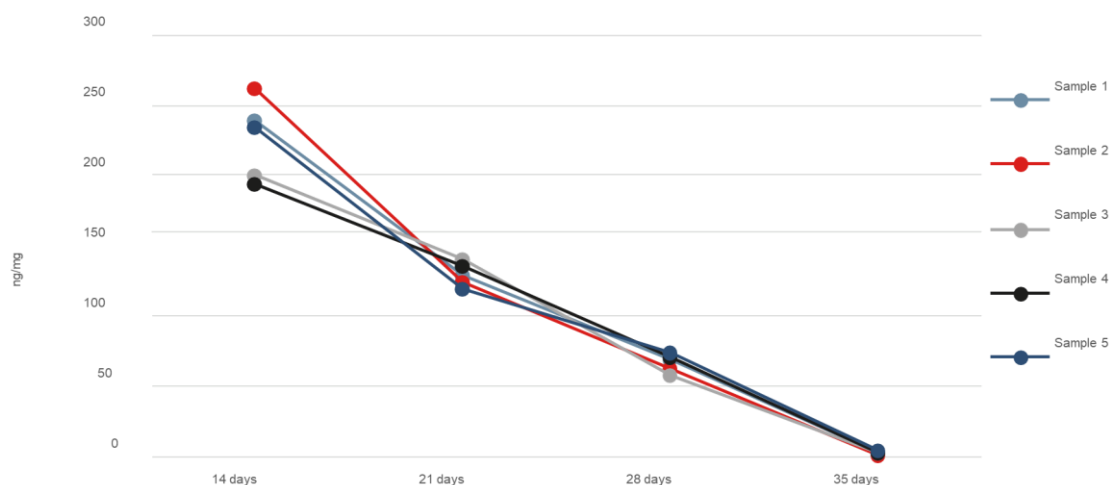


Рисунок 5.2.1 – Ступінь очистки від нуклеїнових кислот біосумісного імплантату протягом виробництва [45]

Під час мікробіологічного дослідження (контроль стерильності) наявність аеробних та анаеробних бактерій, а також грибів у засівах з об'єктів дослідження (біосумісного імплантату) не виявлено. Вироби стерильні.

Для перевірки біосумісності готового медичного виробу взято 10 щурів Вістар віком 4-5 місяців з масою 190-230 г, яких було витримано у середовищі,

вільному від патогенів. Децелюляризований і попередньо стерилізований перикард великої рогатої худоби імплантовано підшкірно в міжлопатковий простір. Тварин розподілено на 2 групи:

- контроль: нативний перикард великої рогатої худоби (n = 5);
- група 1: перикард великої рогатої худоби після етапів обробки (n = 5).

Поверхню шкіри щурів у ділянці операційного поля оголено й оброблено 70 % розчином етилового спирту. Операцію було проведено у стерильних умовах. Для внутрішньом'язової анестезії використано ксилазин («Альфасан», Нідерланди) у дозі 1 мг/кг маси тіла у поєднанні з кетаміном («Біолік», Україна) у дозі 10 мг/кг. На дорсальній шкірі зроблено надріз довжиною 2 см і загостреним шпателем сформовано підшкірні кишені, відокремлюючи підшкірну клітковину від м'язового шару. У просвіт кишені встановлено підготовлені біосумісні імплантати розміром 1 см × 1 см, що фіксувалися по кутах до м'язової тканини вузловими швами «Поліпропілен» або «Catgut Chrome» («Голнит», Україна). Шкіру закрито безперервним швом та оброблено антисептиком – розчином «Бетадин» («EGIS Pharmaceuticals, PLC», Угорщина) або антисептичним розчином 1 % «Діамантовий зелений» («Галичфарм», Україна). Імплантати, які встановлено у міжлопатковий простір щурів, було видалено для гістологічного дослідження через 3 місяці після операції. Евтаназію проведено диетиловим ефіром[45-47].

Також експеримент було проведено на 3-4-місячних самцях в'єтнамських брюховислих поросятах масою 8-10 кг.

Таким чином, щодо наведених доклінічних випробувань для біосумісного імплантату можна сказати про те, що медичний виріб за показниками безпеки здоров'я людини відповідає вимогам вище зазначених стандартів. Біосумісний імплантат безпечний для застосування у кардіохірургії.

### 5.3 Біологічна безпека тканини

Велика рогата худоба може бути переносником трансмісивної губчастої енцефалопатії (ТГЕ). Трансмісивна губчаста енцефалопатія (ТГЕ, BSE) – це прогресивне смертельне захворювання, особливо небезпечне пріонне захворювання, що має тривалий інкубаційний період. Вона зумовлена накопиченням аномального білка – пріона у нервовій тканині. ТГЕ супроводжується дистрофічними ураженнями центральної нервової системи, поступовим розвитком порушення координації рухів, поведінки і чутливості зі 100% смертністю.

Можна виділити дві форми:

- класична ТГЕ виникає після споживання забруднених пріонами кормів;

- атипова виникає спонтанно у всіх популяціях великої рогатої худоби.

ТГЕ великої рогатої худоби передається іншим видам тварин (вівці, кози, котячі, норки) і людям (варіант хвороби Крейтцфельдта-Якоба) [48, 49].

Місце народження тварини, країна проживання протягом життя, місце забою для взяття біологічного матеріалу (перикарду великої рогатої худоби) є територія України (Вінницька область), яка є безпечною з точки зору розповсюдження хвороби худоби. [50, 51].

Відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 22442-2:2020 «Вироби медичні, виготовлені із застосуванням тканин тваринного походження та їх похідних. Частина 2. Контроль отримання, збирання і обігу», тварини, від яких відбирається перикард піддаються ветеринарній інспекції, яка підтверджує, що матеріал тваринного походження, призначений для використання в медичних виробках, походить від тварин, визнаних ветеринаром придатними для споживання людиною.

Документи, що демонструють відповідність критеріям ветеринарного огляду на скотобійні – дані сертифікатів, які надаються постачальником.

Приклад документації, яка надходить від скотобійні, показано на рисунках 5.3.1.

Сертифікат № 11

**а** Сертифікат на тваринний матеріал для використання в медичних виробках

Країна забою тварини/н Україна

Географічне походження тварини/н\* Україна

\* Необхідно включити інформацію щодо ідентифікації і простежуваності тварини/н протягом її життя, якщо така інформація існує і ще невідома виробнику.  
Регістраційний номер забійного підприємства (якщо застосовно) 05149595

Назва та місцезнаходження підприємства ТОВ "Кордунський м'ясозавод"

Матеріал (вказати вид тварини/н) перикард буйволу великої рогатої худоби

Вік тварини/н\* до двох років

\* Якщо практично можна виконати і застосувати, наприклад, для тварин, схильних до природних випадків інфекційної губчастої енцефалопатії.

Вид тканини чи органу перикард


Використані пакувальні матеріали найтонші касети

Кількість ємностей/пакування найтонші касети 10 шт.

Прізвище, ініціали лікаря ветеринарної медицини: Токсова К. Тар

Дата/місяць/рік вибору 16.09.21

Підпис: \_\_\_\_\_  
(Відповідальна особа)



**б** Свідчення здорового стану

Я, лікар ветеринарної медицини, що підписався нижче, підтверджую, що матеріал, описаний у сертифікаті номер 10, отримано від тварини/н, яка/ї визнана/і придатною/ими для споживання людиною і такою/таким, що пройшли передзабійний ветеринарний огляд та післязабійну ветеринарну експертизу.

Проведено на ТОВ "Кордунський м'ясозавод" Дата: 16.09.21

Підпис: \_\_\_\_\_ Прізвище, ініціали лікаря ветеринарної медицини Токсова К. Тар

Рисунок 5.3.1 – Документи, які надаються при постачанні перикарду великої рогатої худоби: а) сертифікат на тваринний матеріал для використання в медичних виробках; б) свідоцтво здорового стану

## Висновки до розділу 5

Описано основні стандарти, на які варто посилалися при проведенні доклінічних випробувань. Указано, які саме випробування проводились. Описано деякі види досліджень. Сформовано дані про біологічний матеріал для застосування у якості медичного виробу. Доведено біосумісність серцевого імплантату.

## 6. КЛІНІЧНІ ДАНІ БІОСУМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ

Для отримання даних про застосування аналогічних або схожих виробів в основному використовувалася медична база даних PubMed, оскільки це найбільша доступна база даних рецензованих медичних статей. Також дані було доповнено пошуком за допомогою інших баз даних, таких як Medscape, Prospero, Cochrane і Clinicaltrials.gov, а також відповідних інших статей, недоступних на PubMed. Було включено лише дослідження англійською мовою, а дані мали бути релевантними та пов'язаними з конкретними характеристиками децелюляризованого перикардіального імплантату. Крім того, література включала використання розглянутого медичного виробу щодо клінічних, технічних і біологічних характеристик. Було виключено дані з пошуку, якщо не було перевірено використання на людях.

Пошук релевантних літературних даних здійснювався за ключовими словами серед публікацій, опублікованих до 01.01.2022.

Оскільки запропонований авторами метод є новим, аналіз літератури не виявив повністю подібних підходів до децелюляризації перикарда великої рогатої худоби. Під час огляду літератури було проведено оцінку понад 154 публікації, які було визнано корисними для виявлення достатніх клінічних доказів, 5 статей було оцінено як достатні для підтвердження безпеки та впровадження методології, 23 з них містять найновішу інформацію.

Більшість нині відомих біосумісних імплантатів, що використовуються у тканинній інженерії, розсмоктуються і замінюються тканинами реципієнта. Матеріал повинен відповідати наступним вимогам: відсутність токсичних продуктів, він не повинен змінювати рН тканини або пригнічувати ріст і диференціювання клітин. Матеріали, що не розсмоктуються, сьогодні практично не використовуються (за винятком кісткових протезів, хоча використання металевих імплантатів скорочується через їх здатність кородувати в агресивному середовищі тканин), оскільки вони обмежують

регенеративний потенціал і можуть спричинити надмірне розростання сполучної тканини, іноді провокують імунну відповідь на чужорідні тіла [52, 53].

Центральним у всій концепції децелюляризації є ізоляція позаклітинного матриксу (ПКМ) від нативних клітин і генетичного матеріалу з метою створення природного скелета. Ключову роль відіграє алореактивність та запобігання відторгнення трансплантата. У світлі останніх подій ефективним способом зниження імуногенності в посттрансплантаційний період і, як наслідок, продовження функціональної придатності є децелюляризація тканини різними способами. Проте ключові механізми реалізації імунної реактивності реципієнта при імплантації безклітинної матриці не встановлені.

Існує кілька методів видалення клітин із тканини; вони включають гіпотонічний клітинний лізис, ферментативне розщеплення, механічне зняття та фіксацію тканин [54]. Існують різні протоколи для виконання децелюляризації тканини, включаючи детергентну та ферментативну екстракції з багаторазовими промиваннями та фізичними підходами. Фундаментальний та ідеальний метод децелюляризації має видаляти всі антигенні компоненти (нуклеїнові кислоти, клітинні мембрани, цитоплазматичні структури, ліпіди та розчинний матрикс) із тканини без пошкодження структури та цілісності позаклітинного матриксу.

У таблиці 6.1 [54] представлені комерційно доступні децелюляризовані імплантати для кардіохірургії, виготовлені різними методами. Найбільше такі медичні вироби представлено в Європі та Сполучених Штатах Америки. Виробники віддають перевагу використанню тканин тваринного походження на основі перикарда свиней, великої рогатої худоби та коней.

Таблиця 6.1 – Сучасні децелюляризовані біосумісні імплантати для кардіохірургії

Назва продукту	Вид ксенотканини	Спосіб обробки
Bovine Pericardium Patch (Braile Biomedica, São José do Rio Preto, Бразилія) [55]	Бичачий перикард	Глутаральдегід
Edwards Bovine Pericardial (Edwards Lifesciences, Irvine, CA, США) [56]	Бичачий перикард	GA-крос-лінкінг запантована антикальцифікація
PhotoFix (CryoLife, Kennesaw, GA, США) [57]	Бичачий перикард	Децелюляризація та фотоокислення
SURGIFOC (FOC Medical, Buenos Aires, Аргентина) [58]	Свинячий та бичачий перикард	GA-крос-лінкінг
CardioCel (Admedus, Malaga, Західна Австралія) [59]	Бичачий перикард	GA-крос-лінкінг, децелюляризація та обробка запантованою методикою
Matrix Patch (Auto Tissue Berlin, Німеччина) [60]	Конячий перикард	Децелюляризація
No-React (BioIntegral Surgical Mississauga, Ontario, Канада) [61]	Свинячий перикард	Гепарин
Peri-Guard (Baxter International Inc. Deerfield, Illinois, США) [62]	Бичачий перикард	GA-крос-лінкінг
Біосумісний імплантат (Хранд, Україна) [63]	Бичачий перикард	Децелюляризація 0,1% додецилсульфатнатрію + крос-лінкінг

Біосумісний імплантат із бичачого перикарда має ряд технічних переваг, таких як простота застосування, необхідні біомеханічні властивості, біосумісність, менша кровотеча зі швів і можливість негайного артеріального дуплексного УЗД у місці ангіопластики [64].

Позаклітинний матрикс бичачого перикарда не містить клітин і містить чистий колаген. Таким чином, він може забезпечити природний транспорт поживних мікроелементів і проліферацію клітин-реципієнтів, прискорюючи ендотелізацію та регенерацію тканин [65].

Хірурги віддають перевагу бичачому перикарду через його еластичність і менший ризик післяопераційного ендокардиту. Деякі виробники стверджують, що їхні імплантати мають технологію запобігання кальцифікації, що може значно зменшити кальцифікацію та підтримувати ендотелізацію [56, 62].

Біологічні протези для кардіохірургії почали використовуватися ще на початку 1960 рр., коли Д. Росс і Б. Барратт-Бойєс встановили аортальний клапан. Згодом для хімічної обробки біотканини А. Карпентьє почав застосовувати глутаровий альдегід, при цьому заміна аортального клапана відбувалася за допомогою стентованого протеза. Сьогодні свинячі аортальні та бичачі перикардальні імплантати широко використовуються у всьому світі навіть без стента. Оскільки щороку імплантується все більше штучних клапанів серця, що є біологічними й механічними, тоді відповідно популярність біопротезів зростає. Однак біологічні й механічні імплантати мають деякі обмеження: інфекції, ризик тромбоемболії, потреба в антикоагулятивних речовинах або проблема в обмеженій довговічності. У цьому випадку алотрансплантат є альтернативою біологічним та механічним протезам і має ряд переваг. Тканина, взята з живого серця, і кріоконсервовані імплантати складаються з життєздатної тканини, відносно стійкої до інфекції та має чудові гемодинамічні властивості. Але з іншого боку, життєздатність чужорідних клітин викликає відповідь імунітету, що, можливо, призведе до дегенерації клапана. При цьому стерилізовані антибіотиками клапани алотрансплантата людини мають обмежену службу через відсутність живих клітин всередині матриксу [83].

В Україні розпочато випробування унікального методу децелюляризації біосумісного імплантату з перикарда великої рогатої худоби. Він уже успішно пройшов етап доклінічного вивчення, що в перспективі дозволяє сертифікувати ці імплантати вітчизняного виробництва [47, 54, 66].

Перикард великої рогатої худоби широко використовується в хірургії, а також зазвичай використовується як пластир після артеріотомії в серцево-судинній хірургії. Матриці з перикарда великої рогатої худоби мають кілька переваг порівняно з протезами, включаючи чудову біосумісність, легке використання, меншу кровотечу з лінії шва та, можливо, знижений рівень інфекції. Ці переваги перикарду великої рогатої худоби призвели до його широкого використання під час каротидної ендартеректомії (КЕА). Однак

довгострокові клінічні результати свідчать про кілька проблем, які можуть бути пов'язані з пластиром, включаючи рестеноз, утворення псевдоаневризми, інфекцію, фіброз, кальцифікацію та тромбоз. Ці ускладнення можуть зменшити довгострокову ефективність КЕА та запропонувати потенційні області для вдосконалення хірургічних пластирів. Розуміння механізмів, за допомогою яких відбувається загоєння після пластирної ангіопластики, може призвести до створення тканинно-інженерних пластирів наступного покоління [67].

Позаклітинний перикардальний матрикс створюється шляхом видалення клітин та їх компонентів з нативної перикардальної тканини хімічними, фізичними та біохімічними методами [68, 69]. За своїми біомеханічними властивостями позаклітинний матрикс мало відрізняється від нативної тканини перикарда, тому придатний для використання при протезуванні серцевих клапанів та при вроджених вадах серця [46, 70].

## Висновки до розділу 6

Розглянуто літературний огляд подібних або таких само медичних виробів. Показано схожі біосумісні імплантати, що вже існують на світовому ринку. Описано спосіб обробки перикарда великої рогатої худоби – методом децелюляризації.

## 7. ПАКУВАННЯ, МАРКУВАННЯ ТА ІНСТРУКЦІЯ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯ. УПАКОВКА І СТРОК ПРИДАТНОСТІ

### 7.1 Первинне пакування, маркування та вторинне пакування

Основним завданням виробника будь-якого виробу є створення спеціальних позначок на готовій продукції для розуміння і можливості подальшого застосування. Тобто за допомогою мінімальної кількості знаків, описати необхідну інформацію, яка стосується медичного виробу.

Біосумісний імплантат має подвійне пакування. Первинне і вторинне пакування є однаковими – це блістери з ПВХ, які додатково запаюються, щоб унеможливити легкий доступ до імплантату. Під час операції медсестра відкриває вторинне пакування таким чином, щоб не було ніякого контакту з первинним пакуванням, яку повинен відкривати лише лікар-хірург безпосередньо перед використанням.

Отже, для уникнення плутанини з пакуванням створено відповідні позначення. Первинне і вторинне пакування мають свій особливий номер NNNRR(R)\_MMPPP,

де NNNN – серійний номер теляти, від якого взято перикард;

RR(R) – розмір біосумісного кардіоімплантату: 55, 38, 68 або 612;

MM – місяць виготовлення;

PPPP – рік виготовлення.

Окрім даного маркування, вторинне пакування має додатково етикетку, на якій зазначено місцезнаходження виробника, дату виготовлення, температурний режим, метод стерилізації і номер партії.

Електронно-променево випромінювання не проникає глибоко в товщину виробу, тому що є певне обмеження – декілька секунд. Завдяки короткому впливу прискорених електронів знижується можливість ефекту окислення, що зводить до мінімуму порушення в структурі як готового виробу, так і пакування.

## 7.2 Коротка інструкція із застосування медичного виробу

Біосумісний імплантат з перикарда великої рогатої худоби виготовлено за спеціальною технологією без використання глутарового альдегіду, що дозволяє позбавити тканину клітин. Має дві різні поверхні – гладку і ворсинчасту.

Серцевий біосумісний імплантат не містить у собі металевих чи феромагнітних матеріалів, що дозволяє без зайвих проблем проходити різнобічні перевірки.

Медичний виріб – біосумісний імплантат постачається стерильним у подвійному пакуванні. Він залишається стерильним поки не пошкоджено пакування. Коли імплантат виймають з пакування, він втрачає свою стерильність, тому його не можна застосовувати.

Обов'язковим правилом є те, що біосумісний імплантат не піддається вторинній стерилізації, тобто ні в якому разі не стерилізувати повторно!

Зберігати необхідно у холодильнику при температурі 2-8 °С.

Не допускати замерзання! Якщо все ж таки відбулося замороження, тоді імплантацію проводити заборонено.

Варто перевіряти термін придатності виробу, який становить 6 місяців від дати виготовлення. Ця інформація вказана на етикетці.

Яким саме чином використовувати біосумісний імплантат вирішує лікар-хірург залежно від стану та симптомів пацієнта.

Побічними діями при застосуванні біосумісного імплантату є ранні ускладнення такі, як гематома, тромбоз, подовжений час кровотечі та пізні ускладнення як інфекції, запалення або формування аневризми або псевдоаневризми.

Існує декілька методів імплантації даного медичного виробу. Методику проведення операції визначає тільки лікар-хірург.

Біосумісний серцевий імплантат утилізується як звичайні біологічні відходи.

Виробник не може давати пряму або непряму гарантію, що даний виріб принесе результат та буде ефективний у використанні.

7.3 Остаточне пакування. Обґрунтування терміну придатності та умов зберігання готового виробу

Готовий біосумісний імплантат складається в головне пакування і відправляється замовнику (рис. 7.3.1).

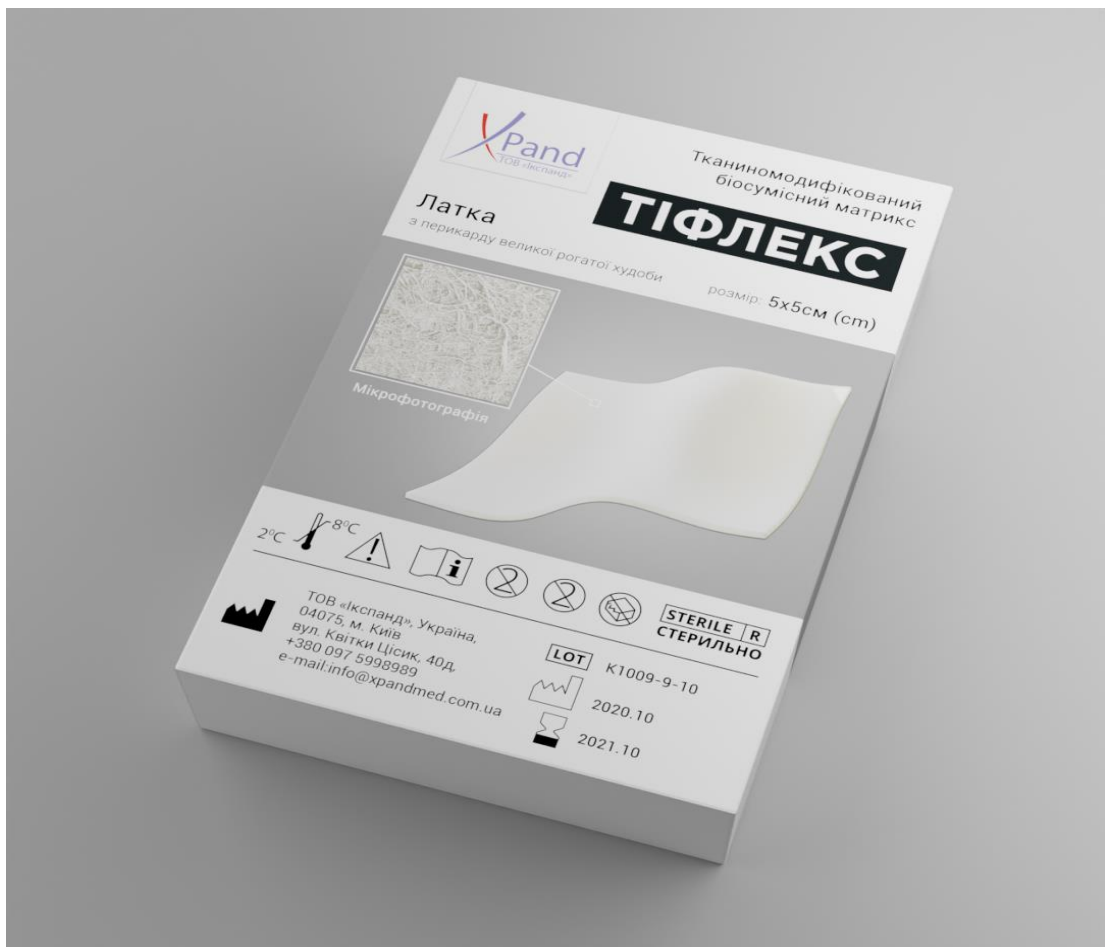


Рисунок 7.3.1 – Приклад вигляду упакованого біосумісного імплантату

Після нанесення маркування, упаковування у подвійне пакування з наклеюванням етикеток необхідно привести продукцію до продажного

вигляду. Отже, остаточним пакуванням є картонна коробка з нанесеними етикетками відповідно до описаного вище у підрозділі 7.1, але з додатковим маркуванням вмісту пакування.

Склад готової картонної коробки, що показано на рисунку 7.3.1:

1. Біосумісний імплантат;
2. Термопакет;
3. Холодоагент для підтримання температури 2-8 °С;
4. Інструкція із застосування;
5. Лист імплантації;
6. Анкета споживача (відгук).


Термін зберігання складає 6 місяців з дати виготовлення.

Символи, які наносяться на етикетку остаточного пакування біосумісного імплантату, наведено у табл. 7.3.1.

Таблиця 7.3.1 – Символи маркування біосумісного імплантату

Позначення символу	Найменування символу
	Ознайомлення з інструкцією по застосуванню
	Повторно використовувати заборонено!
	Увага! Ознайомитись із супровідними документами! (Прочитайте інструкцію по застосуванню!)
	Не використовувати, якщо пакування відкрите чи пошкоджене!
	Температурне обмеження становить 2-8 °С
	Використати до РРРР-ММ
	Виробник (назва та адреса виробника)
	Код партії NNNNRR(R)_MMPPPP
	Стерильно за допомогою випромінювання

## Продовження таблиці 7.3.1

Позначення символу	Найменування символу
 <b>UA.TR.099</b>	Знак відповідності Технологічному регламенту (застосовується після отримання сертифікату від органу відповідності)

## Висновки до розділу 7

Наведено й розшифровано необхідні й обов'язкові символи, що вказують на етикетці. Наведено складники упакування. Складено інструкцію до біосумісного імплантату.

## 8. ВИРОБНИЦТВО БІОСУМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ

Технологічний процес виробництва біосумісного імплантату показано на схемі у додатку А. Опис кожної стадії процесу виробництва представлено нижче.

Технологія виготовлення біосумісних імплантатів належить до біотехнологічного виробництва, в основі якого лежить типова схема допоміжних процесів (підготовка обладнання, приміщень, персоналу, води, повітря тощо) та основних етапів виробництва. Технологія виготовлення біосумісних серцевих імплантатів складається з наступних етапів: забір біологічної тканини (перикард великої рогатої худоби), транспортування перикарда, підготовка перикарда до процесу роботи й обробка біологічної тканини.

### *ДР 1 Санітарна підготовка виробництва*

Цей етап є одним з основних кроків виготовлення біосумісних імплантатів, оскільки завдяки попередній підготовці виробництва забезпечується якість біологічного матриксу. На цьому етапі відбувається санітарна підготовка приміщень (обробка виробничих поверхонь, приладів і комунікацій засобами для дезінфекції, контроль відповідності приміщень класам чистоти), навчання працівників (медогляди й профілактичні заходи, інструктаж і перепідготовка, спецодяг); огляд, ремонт і підготовка обладнання (перевірка справності заземлення, герметичності приладів тощо; миття, дезінфекція, стерилізація приладів і трубопроводів). Санітарна підготовка технологічного процесу здійснюються відповідно до вимог Належної виробничої практики (GMP), ДСанПіН та чинних нормативних документів в області фармацевтичної та біотехнологічної галузі.

Навчання персоналу охоплює інструктаж з техніки безпеки та охорони здоров'я, посадові обов'язки та знайомство з інструкціями та СОПами необхідними під час виробництва біосумісних імплантатів.

Працівники обов'язково переодягаються у спеціальний технологічний одяг й обробляють руки засобами для дезінфекції. Робітники протягом виконання стерильних етапів виробництва біосумісних імплантатів повинні попередньо переодягтися у комплект стерильного технологічного одягу й обробити руки дезінфікуючим розчином.

Для обробки поверхонь, обладнання необхідно готувати 0,5 % розчин мийного засобу і 6 % розчин перекису водню, що використовуються на подальших кроках санітарної підготовки виробництва біосумісних імплантатів.

Приготування розчинів для дезінфекції проводять із дотриманням правил техніки безпеки: одяганням гумових рукавичок, захисних окулярів, медичної маски.

Підготовка виробничих приміщень виконується згідно з СТ-Н МОЗУ 40-4.6:2015 «Вимоги до виготовлення стерильних та асептичних лікарських засобів в умовах аптек».

Щоденне прибирання перед роботою включає: протирання робочих поверхонь та обладнання 70 % розчином ізопропілового спирту. У кінці робочого тижня всі поверхні очищаються 0,5 % розчином м'якого засобу та дезінфікують 6 % розчином перекису водню. Потім обладнання п'ять разів миють чистою водою. Наступний етап – стерилізація при режимі:  $t = 140\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,2\text{ МПа}$ ,  $\tau = 1\text{ год}$ . Робочі поверхні, стіни та підлогу також обробляють 0,5 % розчином мийного засобу. Використані матеріали після очищення дезінфікують у 6 % розчині перекису водню,  $\tau = 3\text{ год}$ .

Підготовка лабораторного обладнання і комунікацій проводиться до і після процесингу. Це охоплює перевірку роботи обладнання та його частин, налаштування пристрою, мийку, обробку розчинами для дезінфекції обладнання і комунікацій із подальшим ополіскуванням. Кожного разу, використовуючи лабораторний прилад або пристрій, потрібно перевіряти правильність його роботи та компонентів, забезпечувати налаштування для кожної стадії. Налаштування виконується для кожного етапу окремо.

Щоденне дезінфікування обладнання проводять шляхом обробки зовнішніх поверхонь обладнання та комунікацій спеціальним розчином перекису водню і питною водою з візуальним контролем якості обробки, а також у дозволених місцях використовують розчині ізопропілового спирту 70 %.

Деякі стадії обробки біологічної тканини потребують застосування 2-3 скляних банок з кришками на кожен партію. Окрім цього, необхідними також є пластмасові ємності для заміни розчинів біологічної тканини, мірні циліндри та бутлі різних об'ємів (від 500 мл до 5000 мл), пластмасові лотки для наважок та ложки для приготування розчинів. Посуд спочатку обробляють 0,5 % розчином миючого засобу, потім стерилізують  $t = 140\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,2\text{ МПа}$ ,  $\tau = 1\text{ год}$ .

Обов'язково необхідно провести попередню підготовку очищеною водою та вентиляційного і стерильного повітря.

Очищена вода застосовується для допоміжних та основних технологічних процесів.

Параметри повітря для виробничих приміщень:  $t = 21 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  взимку і  $t = 23 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  влітку; відносна вологість не більше 60 % з урахуванням технологічних вимог.

Для отримання вентиляційного повітря його послідовно очищують на фільтрах тонкої очистки  $d = 1,5\text{ мкм}$  та  $d = 0,5\text{ мкм}$ .

#### *ДР 2 Розчини для обробки біологічної тканини*

Кожна стадія обробки біологічної тканини має свою особливість і час виконання. Всі розчини готуються за спеціальними завчасно підготовленими і затвердженими інструкціями або процедурами на виробництві.

##### *ДР 2.1 Розчин додецилсульфату натрію (SDS) 0,1 %*

Додецилсульфат натрію (sodium dodecyl sulfates, SDS) – аніонний миючий засіб (детергент), що має вигляд мильного розчину.

Для 1 л 0,1 % SDS знадобиться реактив SDS, дистильована  $H_2O$ , наважки, пластмасова ложка, скляний бутель для перемішування речовин та ваги.

Скляний бутель наповнити приблизно 700-800 мл дистильованою  $H_2O$ . Зважити пластмасовий контейнер для SDS на вагах. За допомогою пластмасової ложки взяти 1 г SDS, намагаючись не дихати. Реактив висипати у скляний бутель з водою, перемішати. До розчину долити ще 200-300 мл дистильованою  $H_2O$ , струсити і розмішати до повного розчинення, до отримання однорідного розчину з мильними бульбашками.

#### *ДР 2.2 70 % розчин етилового та ізопропілового спирту*

Обидва розчини готуються за однаковими схемами.

Для 1 л використовують воду дистильовану й етиловий 96 % або ізопропіловий спирт 99 %, а також скляний бутель та мірний циліндр. Скляний бутель наповнити 300 мл дистильованою  $H_2O$ . У скляний бутель долити 700 мл 96 % етилового або 99 % ізопропілового спирту і перемішати.

#### *ДР 2.3 Фосфатний буфер*

Для 500 мл фосфатного буфера застосовують воду дистильовану й 1 таблетку PBS.

#### *ДР 2.4 Розчин для зшивання (крос-лінкінг)*

Розчин для зшивання (крос-лінкінгу) складається з двох частин: 0,05 моль 2-морфоліноетансульфонової кислоти (MES) зі значенням рН 5,6 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід гідрохлорид (EDC) і N-гідроксисукцинімід (NHS).

Для 500 мл MES буферу 0,05 моль застосовується вода дистильована, у яку засипається реагент MES hydrate  $m = 4,9$  г. Наступне – вимірювання і доведення рівня рН до 5,6. Після забезпечення необхідного рівня рН у буферний розчин додаються наступні два реагенти. Для 20 мл MES буферу – 23,01 мг NHS і 38,16 мг EDC. Перемішати всі складові.

#### *ТП 3 Забір біологічної тканини (перикард великої рогатої худоби)*

Для виробництва біосумісних імплантатів використовується перикард великої рогатої худоби, що відібрано у тварин з ветеринарним контролем. Вік – не старше 2-х років. Обов'язкова умова дозволу на забір біологічної тканини – це наявність скотобійні відповідного сертифікату якості. При заборі біологічної тканини максимально очищують від залишків жирової тканини.

#### *ТП 4 Транспортування перикарда*

Транспортування біологічної тканини з місця забору до виробництва відбувається у термобоксах  $t = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau = 2\text{ год}$ . Для відстеження і присвоєння номера партії готовому біосумісному імплантату скотобійня повинна надати супровідні документи – сертифікат, ветеринарне свідоцтво та список тварин, від яких було одержано перикард.

#### *ТП 5 Підготовка перикарда*

Перикард треба максимально очистити від зайвих компонентів, які було пропущено на скотобійні.

##### *ТП 5.1 Ополіскування*

Для полоскання застосовується вода дистильована. Біологічну тканину занурюють у пластмасові циліндри по черзі. Полоскання здійснюють круговими рухами руки.

##### *ТП 5.2 Розкроювання*

Обираємо найбільш рівномірну і непошкоджену частину, без крововиливів. При розкроюванні перикарда використовується силіконова дощечка, скальпель (змінюється після кожного перикарду) та лінійка. Після розкроювання кожен шматок перикарда поміщається у пластмасову місткість з очищеною водою для подальшого споліскування.

##### *ТП 5.3 Позбавляння від компонентів крові*

Розкромлені шматки перикарда відмиваються від компонентів крові у воді очищеній протягом 1 год.

##### *ТП 5.4 Заморожування*

Шматки перикарда заморожують у морозильній камері  $t = -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\tau = 24\text{ год}$ .

### *ТП 5.5 Розморожування*

Біологічна тканина повинна розморозитися при кімнатній температурі (20 °C)  $\tau = > 10$  годин.

### *ТП 6 Обробка біологічної тканини*

Головна частина обробки біологічної тканини – на кожній стадії обробки й зміни розчинів усі шматки перикарда перевіряються на відповідність певним критеріям контролю якості: при виявленні невідповідності – зразок утилізується з процесу обробки.

#### *ТП 6.1 Осмотичний шок*

Біологічний матеріал повинен пройти етап впливу води дистильованої на клітини перикарда (проникнення всередину клітин і розрив мембранних компонентів)  $\tau = 24$  год  $t = 4$  °C з постійним струшуванням зі швидкістю 200 об/хв.

#### *ТП 6.2 Хімічний спосіб*

Хімічний спосіб обробки проводять за допомогою аніонного детергенту SDS  $\tau = 7$  діб,  $t = 4$  °C з постійним струшуванням зі швидкістю 200 об/хв.

#### *ТП 6.3 Позбавлення токсинів*

Хімічний спосіб обробки є дуже токсичним, тому необхідно зробити детоксикацію. Її виконують  $\tau = 7$  діб із дистильованою водою  $t = 4$  °C з постійним струшуванням зі швидкістю 200 об/хв.

#### *ТП 6.4 Фіксація та стабілізація*

Застосовується етанол 70 %, відбувається  $\tau = 12$  год,  $t = 4$  °C з постійним струшуванням зі швидкістю 200 об/хв.

#### *ТП 6.5 Відмивання*

Відмивання від спирту з використанням фосфатного буфера із рН 7,4,  $\tau = 24$  год,  $t = 4$  °C з постійним струшуванням зі швидкістю 200 об/хв.

#### *ТП 6.6 Зшивка (крос-лінкінг)*

Зшивання (крос-лінкінг) відбувається протягом 12 год з постійним струшуванням зі швидкістю 200 об/хв при кімнатній температурі з постійним рН 5,6.

### *ТП 6.7 Відмивання*

Промивання у фосфатному буфері із рН 7,4,  $\tau = 3$  год,  $t = 4$  °С з постійним струшуванням зі швидкістю 200 об/хв.

### *ТП 7 Фасування біосумісного імплантату*

Фасування біосумісного імплантату потребує застосування лінійки, скальпеля (змінюється після кожного зразка) та силіконової дощечки. Сформувавши зразок біосумісного імплантату заданого розміру, його фасують у два пакувальні блістери з ПВХ, наповнюючи фосфатним буфером із рН 7,4, для вирівнювання біосумісного імплантату застосовують піпетку Пастера.

### *ТП 8 Маркування біосумісного імплантату*

Маркування зразків біосумісного імплантату для подальшого пакування, відправлення та відстежування готового продукту.

### *ТП 9 Стерилізація біосумісного імплантату*

Стерилізація проводиться електронним випромінювання (β-випромінювання) з дозою опромінення 20 кГр протягом 8 хвилин.

### *ТП 10 Контролювання якості біосумісного імплантату*

Контроль якості біосумісного імплантату здійснюється у кожній партій відповідно до вимог системи оцінки якості ДСТУ ISO 13485:2018 Вироби медичні. Системи управління якістю. Вимоги щодо регулювання.

### *ТП 11 Пакування, складання біосумісного імплантату*

Біосумісний імплантат пакується у гофровану картонну коробку, на яку приклеюється етикетка з необхідною інформацією щодо медичного виробу: інструкція, листи імплантації та конверт з анкетною. Коробки закриваються і наклеюється контроль першого відкриття, потім відправляються на склад.

### *ЗВ 12 Утилізація відходів та промислових викидів*

Усі виробничі відходи та допоміжні робочі розчини перед утилізацією знешкоджуються і знезаражуються.

### *ПВ 13 Перероблення відходів*

Деякі матеріали і речовини можна повторно використати при умові належної обробки. Наприклад, тканинні фільтри, що використовуються при

підготовці води та повітря, регенерують шляхом їх вимочування в гарячій воді з подальшим чищенням і обробкою розчинами, що дезінфікують.

### Висновки до розділу 8

У розділі сформовано, детально описано і обґрунтовано технологічну схему виробництва біосумісного імплантату.

## 9. СТЕРИЛІЗАЦІЯ БІОСУМІСНОГО ІМПЛАНТАТУ

Для подальшого застосування біосумісного імплантату у клінічній практиці невіддільним етапом є процес стерилізації медичного виробу. Однак ця стадія технологічного процесу отримання біологічної тканини також може вплинути на її біологічні властивості, а методи, які можна безпечно використовувати для стерилізації тканин, обмежені. Методи, які найчастіше використовуються для стерилізації біоматеріалів, включають хімічну обробку (етанол, етиленоксид), обробку антибіотиками, фізичні методи з використанням опромінення (ультрафіолетове опромінення, гамма- та електронне опромінення) і теплову обробку. Кожен із методів стерилізації має свої переваги та недоліки [71].

Вибір ефективного методу стерилізації надзвичайно важливий для уникнення контамінації виробів, а також небажаних змін фізико-хімічних властивостей стерилізованого матеріалу [72, 73].

Вплив електронного опромінення може призвести до розриву молекулярних ланцюгів полімеру на менші фрагменти, що призводить до зміни властивостей матеріалу та його деградації [74].

Хоча багато авторів повідомляли про електронну стерилізацію як про ефективний метод для волокнистих матеріалів [75], деградація матеріалу після стерилізації може зробити цей метод непридатним для матеріалів для біомедичних застосувань. Своєю чергою, слід зазначити, що цей висновок залежить від дози та часу опромінення.

Медичну дозу стерилізації утворює концентрація вільних радикалів, що одержується при дозі опромінення 25-30 кГр. Таке опромінення забезпечує безповоротне припинення тривалості життя будь-яких видів мікроорганізмів для застосування у хірургії на рівні стерильності  $10^{-6}$ . Тобто можливе виживання складає не більше 1 мікроорганізму на мільйон [76].

Стерилізаційна доза 10 кГр не мала суттєвого впливу на структуру та архітектуру колагенових волокон у децелюляризованому перикарді великої рогатої худоби, забезпечуючи при цьому повну відсутність росту бактеріальної та грибкової мікрофлори. Таким чином, можна припустити, що радіаційний метод стерилізації може бути безпечним у застосуванні для стерилізації біосумісних імплантатів [71].

Отже, стерилізація біосумісного імплантату здійснюється електронним випромінюванням ( $\beta$ -випромінювання) із дозою опромінення 20 кГр протягом 8 хвилин. Таку дозу було обрано також на підставі оцінки літературних даних.

Відповідно до літературних даних при такому виді стерилізації електрони прискорюються до високих енергій, що дозволяє їм проникати в середовище з густиною, що рівне густині води, на глибину до 2,5 см. У готовому продукті виникає іонізація, яка призводить до пошкодження внутрішньоклітинних структур і подальшої загибелі мікроорганізмів. Зі збільшенням дози опромінення ефективність антимікробної дії зростає. Тому іонізувальне випромінювання у великих дозах ( $> 10$  кГр) широко використовують для стерилізації біопрепаратів, медичних інструментів і медичних виробів [77].

Також є дані, які свідчать, що електронно-променевиий спосіб використовує високий рівень енергії електронів як засіб стерилізації. Електрони прискорюються до швидкості світла за допомогою лінійного прискорювача. Енергія електронів у діапазоні від 3 до 10 МеВ з потужністю пучка в діапазоні від 1 до 10 кВт виявляється достатньою для проникнення в готовий медичний виріб, що герметично упакований. Електрони, скануючи продукт, проходять через безліч вторинних частинок, включаючи іони й вільні радикали. Вторинні частинки розривають ДНК-ланцюжки мікроорганізмів і на внутрішній поверхні пакування, і всередині продукту, блокуючи при цьому їх подальше розмноження. Патогенні мікроби руйнуються, і внаслідок цього відбувається стерилізація готового виробу. Крім того, варто зазначити, що

високі дози опромінення можуть негативно впливати на білкову структуру колагенових та еластинових волокон біосумісного імплантату [76].

Електронно-променеве випромінювання не передбачає глибинного проникнення в товщу продукту, як це робить гамма-випромінювання. Дія електронного випромінювання обмежується декількома секундами, на відміну від багатогодинного впливу на продукт гамма-випромінюванням. Короткочасність впливу прискорених електронів знижує можливі ефекти окислення, зводячи до мінімуму порушення в структурі як продукту, так і пакувального матеріалу [78].

Було оцінено інформацію, що наведена в патенті від 08.12.2019 №219.017.EAA1 на спосіб отримання імплантату на основі стерильного деорганіфікованого матриксу, що включає механічну обробку, видалення органічної фази з інкубацію демінералізованого матриксу в розчині сангвіритрину для його іммобілізації та стерилізацію радіаційним опроміненням потоком швидких електронів з величиною поглиненої дози 11-15 кГр герметично упакованих зразків та патенту на Electron Beam Sterilised Medical Device With Bioactive Coating, який надано Kordis Korporejshn (US), автори Falotiko Robert (US), LI CHensyue (US), Ngujen Taj Minkh (US), Parker Teodor L. (US), Chzhao Dzhonaton Z. (US). Винахід належить до способів електронно-променевої стерилізації упакованого медичного пристрою, обробку пакування й медичного пристрою однією або декількома дозами електронно-променевого випромінювання. При цьому рівень дози опромінення знаходиться в межах від 10 кГр до 40 кГр.

У загальному радіаційний метод застосовується до виробів, які є нестійкими до високих температур. Під час проведення стерилізації промені проникають через пакування й знищують усі мікроорганізми, але водночас не залишають слідів випромінювання.

Стерилізація електронно-променевим способом являється безпечною та екологічною. Широко застосовується для медичних виробів одноразового призначення.

Для перевірки стерильності біосумісного імплантату відбувається мікробіологічний контроль стерильності медичних виробів, який в обов'язковому порядку перевіряється у кожній партії готового продукту.

Отже, за результатами аналізу літературних джерел та світового досвіду щодо стерилізації медичних виробів електронно-променевим опроміненням для стерилізації біосумісного імплантату для кардіохірургії обрано метод стерилізації електронним випромінюванням ( $\beta$ -випромінювання) із дозою опромінення 20 кГр протягом 8 хвилин. Стерилізація електронним опроміненням не є шкідливою для децелюляризованої перикардіальної тканини та забезпечує збереження безпечної колаген-еластинової ультраструктури імплантату.

#### Висновки до розділу 9

Виконано детальний опис та обґрунтування методу стерилізації для біосумісного імплантату. Обрано необхідний час та дозу опромінення стерилізації біосумісного імплантату.

## 10. ДЕКЛАРАЦІЯ ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ

### ДЕКЛАРАЦІЯ ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ МЕДИЧНИХ ВИРОБІВ № 13

*Виробник:* НТУУ «КПІ ім. І. Сікорського», факультет біомедичної інженерії, кафедра трансляційної біоінженерії, м. Київ, пр. Перемоги 37

*підтверджує, що вироби медичні:* біосумісний імплантат для кардіохірургії

*клас ризику:* III

*які виготовляються на* ТОВ «ІКСПАНД»

*адреси виробничих майданчиків:* м. Київ, вул. Квітки Цісик 40

відповідають вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 02.10.2013 р. №753.

Технічна документація на медичний виріб розроблена та впроваджена.

Декларацію складено на підставі:

1. Сертифікат на систему управління якістю відповідно вимог ДСТУ ISO 13485:2005 (ISO 13485:2003, IDT) № 1 від 24.10.2022 р., чинний до 24.10.2027 р.;

2. Сертифікат відповідності № 2 від 24.10.2022 р., чинний до 24.10.2027 р. щодо забезпечення функціонування комплексної системи управління якістю вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів, Додаток 3, виключаючи пункти 8-11;

Сертифікати видано ОС/ООВ \_\_\_\_\_  
(номер призначеного органу № \_\_\_\_\_, атестат акредитації № \_\_\_\_\_).

Відповідальність за достовірність наданої інформації несе виробник.

Виробник

М.П.

\_\_\_\_\_ (підпис)

\_\_\_\_\_ (ПІБ)

## ВИСНОВКИ

У результаті виконаної роботи вирішено актуальне науково-практичне завдання, яке належить до знаходження лікування серцево-судинних захворювань та вроджених і набутих вад серця та підготовки до проведення оцінки відповідності Технічному регламенту біосумісного імплантату для кардіохірургії. При цьому отримано наступні наукові та практичні результати:

1. Розглянуто можливі види матеріалів для виготовлення імплантатів для лікування серцево-судинних захворювань. Існують матеріали синтетичного та біологічного походження. Для даного імплантату визначено виготовлення з тканини біологічного походження – тканина тваринного походження – перикард великої рогатої худоби.

Перед імплантацією медичного виробу необхідно здійснити належну обробку біологічної тканини. Метод обробки перикарда великої рогатої худоби називається децелюляризація. Описано декілька типів такої обробки. У більшості випадках при застосуванні децелюляризації використовується глютаровий альдегід, який являється токсичною речовиною, що призводить до кальцифікації. Тому запропоновано новий удосконалений метод без застосування глютарового альдегіду та з кращими біосумісними властивостями після проведеної обробки.

2. Запропоновано, удосконалено та детально описано процес технологічного виробництва біосумісних імплантатів для кардіохірургії. Технологічна схема отримання біосумісних імплантатів складається з допоміжних робіт – санітарна підготовка виробництва та приготування розчинів для обробки перикарду великої рогатої худоби та 8 стадій основного виробничого процесу – забір біологічної тканини, транспортування перикарду, підготовка перикарду, власне обробка біологічної тканини (процес децелюляризації), фасування, маркування, стерилізація, контролювання якості, пакування і складання біосумісного імплантату.

Важливо відзначити, що головною ознакою удосконалення процесу децелюляризації являється зменшення тривалості обробки від 48 діб до 30 діб, а також покращені характеристики міцності та біосумісності даного медичного виробу.

3. Проведено аналіз основної документації у галузі сертифікації медичних виробів, міжнародних, європейських та національних стандартів і нормативно-правових актів та законів України, що дозволило узагальнити, структурувати та сформулювати технічний файл на біосумісний імплантат із застосуванням переліку обов'язкових вимог за призначенням, що необхідні для проведення оцінки відповідності Технічним регламентам біосумісного імплантату для кардіохірургії. Для можливості готового продукту в обіг на ринок України і для регулювання виробництва медичного виробу обов'язковою умовою є така оцінка.

Для біосумісного імплантату розроблено розділи технічного файлу, що містять необхідну інформацію про вигляд виробу; про проведений аналіз ризиків, у процесі якого встановлено основні ризики виробництва та критичні точки, що потребують контролю; описано сучасний стан застосування подібних імплантатів та їх клінічні дані; допустимі умови зберігання імплантату; про розроблену інструкцію із застосування, що дозволить безпечно користуватися біосумісним імплантатом та містить додаткові умови під час імплантації з ними та наведено необхідне маркування та його розшифрування, що має бути на упаковці виробу. У результаті роботи розроблено декларацію про відповідність.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Majid QA, Fricker ATR, Gregory DA, Davidenko N, Hernandez Cruz O, Jabbour RJ, Owen TJ, Basnett P, Lukasiewicz B, Stevens M, Best S, Cameron R, Sinha S, Harding SE and Roy I (2020) Natural Biomaterials for Cardiac Tissue Engineering: A Highly Biocompatible Solution. *Front. Cardiovasc. Med.* 7:554597. doi: 10.3389/fcvm.2020.554597.
2. Roacho-Pérez, J.A.; Garza-Treviño, E.N.; Moncada-Saucedo, N.K.; Carriquiry-Chequer, P.A.; Valencia-Gómez, L.E.; Matthews, E.R.; Gómez-Flores, V.; Simental-Mendía, M.; Delgado-Gonzalez, P.; Delgado-Gallegos, J.L.; et al. Artificial Scaffolds in Cardiac Tissue Engineering. *Life* 2022, 12, 1117. <https://doi.org/10.3390/life12081117>.
3. Mei X and Cheng K (2020) Recent Development in Therapeutic Cardiac Patches. *Front. Cardiovasc. Med.* 7:610364. doi: 10.3389/fcvm.2020.610364.
4. Rahimtoola SH. Choice of prosthetic heart valve for adult patients. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:893–904.
5. Julie RF, Boris AN, Joseph PV. Tissue engineering: a 21st century solution to surgical reconstruction. *Ann Thorac Surg* 2001;72:577–91.
6. Cannegieter SC, Rosendaal FR, Briet E. Thromboembolic and bleeding complications in patients with mechanical heart valve prostheses. *Circulation* 1994;89:635–41.
7. Ralf S, Simon PH, Jason SS et al. Tissue engineering of heart valves: in vitro experiences. *Ann Thorac Surg* 2000;70:140–4.
8. Kirklin JK, Smith D, Novick W et al. Long-term function of cryopreserved aortic homografts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:154–66.
9. Mitchell RN, Jonas RA, Schoen FJ. Pathology of explanted cryopreserved allograft heart valves: comparison with aortic valves from orthotopic heart transplants. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998;115:118–27.

10. Julie RF, Boris AN, Joseph PV. Tissue engineering: a 21st century solution to surgical reconstruction. *Ann Thorac Surg* 2001;72:577–91.
11. Simon P, Kasimir MT, Seebacher G et al. Early failure of the tissue engineered porcine heart valve SYNERGRAFT in pediatric patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;23:1002–6.
12. Hacker MC, Krieghoff J, Mikos AG. Synthetic Polymers. In: Atala A, editor. *Principles of Regenerative Medicine*. 3 ed. Academic Press. 2018:1428-1428.
13. Hench LL, Polak JM. Third-Generation Biomedical Materials. *Science*. 2002; 295(5557):1014-1017.
14. Beltran-Vargas, N.E.; Peña-Mercado, E.; Sánchez-Gómez, C.; Garcia-Lorenzana, M.; Ruiz, J.-C.; Arroyo-Maya, I.; Huerta-Yepez, S.; Campos-Terán, J. Sodium Alginate/Chitosan Scaffolds for Cardiac Tissue Engineering: The Influence of Its Three-Dimensional Material Preparation and the Use of Gold Nanoparticles. *Polymers* 2022, 14, 3233. <https://doi.org/10.3390/polym14163233>.
15. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials*. 2006; 27(19):3675-3683.
16. Gervaso F, Sannino A, Peretti GM. The biomaterialist's task: scaffold biomaterials and fabrication technologies. *Joints*. 2013;1:130-137.
17. Brahatheeswaran D, Yasuhiko Y, Toru M, Sakthi KD. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review. *Int J Polym Sci*. 2011;2011:1-19.
18. Gerecht-Nir S, Radisic M, Park H, et al. Biophysical regulation during cardiac development and application to tissue engineering. *Int J Dev Biol*. 2003;50:233-243.
19. Matsuno T, Omata K, Hashimoto Y, Tabata Y, Satoh T. Alveolar bone tissue engineering using composite scaffolds for drug delivery. *Jpn Dental Sci Rev*. 2010;46:188-192.
20. Calori IR, Braga G, de Jesus P d CC, Bi H, Tedesco AC. Polymer scaffolds as drug delivery systems. *Eur Polym J*. 2020;129:109621.

21. Rossi, G.; Broguiere, N.; Miyamoto, M.; Boni, A.; Guiet, R.; Girgin, M.; Kelly, R.G.; Kwon, C.; Lutolf, M.P. Capturing cardiogenesis in gastruloids. *Cell Stem Cell* 2021, 28, 230–240.e6.
22. Rezaei, F.S.; Sharifianjazi, F.; Esmailkhanian, A.; Salehi, E. Chitosan films and scaffolds for regenerative medicine applications: A review. *Carbohydr. Polym.* 2021, 273, 118631.
23. Roshandel M, Dorkoosh F. Cardiac tissue engineering, biomaterial scaffolds, and their fabrication techniques. *Polym Adv Technol.* 2021;32:2290–2305. <https://doi.org/10.1002/pat.5273>.
24. Porzionato A., Stocco E., Barbon S., Grandi F., Macchi V. and De Caro R. Tissue-Engineered Grafts from Human Decellularized Extracellular Matrices: A Systematic Review and Future Perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 4117; doi:10.3390/ijms19124117.
25. Mirsadraee, S.; Wilcox, H.E.; Korossis, S.A.; Kearney, J.N.; Watterson, K.G.; Fisher, J.; Ingham, E. Development and characterization of an acellular human pericardial matrix for tissue engineering. *Tissue Eng.* 2006, 12, 763–773.
26. Vinci, M.C.; Tessitore, G.; Castiglioni, L.; Prandi, F.; Soncini, M.; Santoro, R.; Consolo, F.; Colazzo, F.; Micheli, B.; Sironi, L.; et al. Mechanical compliance and immunological compatibility of fixative-free decellularized/cryopreserved human pericardium. *PLoS ONE* 2013, 8, e64769.
27. Van Steenberghe, M.; Schubert, T.; Guiot, Y.; Bouzin, C.; Bollen, X.; Gianello, P. Enhanced vascular biocompatibility of decellularized xeno-/allogeneic matrices in a rodent model. *Cell Tissue Bank.* 2017, 18, 249–262.
28. Galvez-Monton, C.; Bragos, R.; Soler-Botija, C.; Diaz-Guemes, I.; Prat-Vidal, C.; Crisostomo, V.; Sanchez-Margallo, F.M.; Lucia-Valldeperas, A.; Bogonez-Franco, P.; Perea-Gil, I.; et al. Noninvasive Assessment of an Engineered Bioactive Graft in Myocardial Infarction: Impact on Cardiac Function and Scar Healing. *Stem Cells Transl. Med.* 2017, 6, 647–655.

29. Zhang J, Tomov ML, Chong JJ H, Menasché P and Serpooshan V (2021) Editorial: Bioengineering and Biotechnology Approaches in Cardiovascular Sciences. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 9:746435. doi: 10.3389/fbioe.2021.746435.
30. Сокол А. А. БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ОТРИМАННЯ БІОІМПЛАНТУ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ У КАРДІОХІРУРГІЇ : дис. канд. біол. наук : 03.00.20 / Сокол Анатолій Анатолійович – Київ, 2021. – 161 с.
31. Технічний регламент щодо медичних виробів №753.
32. ДСТУ EN ISO 10993 «Біологічне оцінювання медичних виробів».
33. ДСТУ EN ISO 22442 «Вироби медичні, виготовлені із застосуванням тканин тваринного походження та їх похідних».
34. ISO 14971:2019 «Вироби медичні – Настанови щодо управління ризиком».
35. ISO 13485:2016 «Медичні вироби – Системи управління якістю – Вимоги до регулювання».
36. ДСТУ EN 1041:2015 «Вироби медичні. Інформація, яку надає виробник».
37. ДСТУ EN 980:2008 «Символи графічні для маркування медичних виробів».
38. ISO 11607:2019 «Упаковка для остаточно стерилізованих медичних виробів».
39. Настанова з належної лабораторної практики та принципів біоетики.
40. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження».
41. Європейська конвенція про захист хребетних тварин (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition).
42. Настанова 42-01-2003 «Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація».
43. Державна Фармакопея України.
44. European Pharmacopoeia 10th Edition.

45. Sokol AA, Grekov DA, Yemets GI, et. al. Prospects for application of bovine pericardial scaffold for cardial surgery. *Biotech. Acta* 2020, 13(6):41-49. DOI: <https://doi.org/10.15407/biotech13.06.041>.

46. Shchotkina NV, Sokol AA, Galkin OYu, et. al. Optimized method of bovine pericardium decellularization for tissue engineering. *Wiad Lek.* 2021; 74(4):815-820. DOI: 10.36740/WLek202104101.

47. Sokol AA, Grekov DA, Yemets GI, et. al. Biocompatibility analysis of the decellularized bovine pericardium. *Cell Organ Transpl.* 2020; 8(2):112-116. DOI: 10.22494/cot.v8i2.110.

48. Що потрібно знати про губчастоподібну енцефалопатію [Електронний ресурс] // Головне управління Держпродспоживслужби в Дніпропетровській області. – 2021. – Режим доступу до ресурсу: <https://dp.dpss.gov.ua/news/shcho-potribno-znati-pro-gubchastopodibnu-encefalopatiyu>.

49. Енцефалопатія губкоподібна великої рогатої худоби [Електронний ресурс] // НВЦВМ «Ветеринарний простір». – 2021. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.bse.vet.ua/>.

50. Загроза занесення губчастої енцефалопатії ВРХ [Електронний ресурс] // Народицька районна державна адміністрація Житомирської області. – 2018. – Режим доступу до ресурсу: <https://cutt.ly/B1FJPNG>.

51. Annual incidence rate\* of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in OIE Member Countries that have reported cases, excluding the United Kingdom [Електронний ресурс] // World Organization for Animal Health. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: <https://web.archive.org/web/20160325024602/http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/annual-incidence-rate/>.

52. Sultanova AS, Bepalova OYa, Galkin OYu. Stromal-vascular fraction of adipose tissue as an alternative source of cellular material for regenerative medicine. *Ukr Biochem J.* 2021; 93(1): 40-50. DOI: 10.15407/ubj93.01.040.

53. O.V. Shtapenko, I.I. Hevkan, Yu.I. Slyvchuk, V.Y. Syrvatka, N.M. Matvienko, “Formation and properties polymer nanolayers to enhance cell growth in vitro”, *Innovative Biosystems Bioengineering*, vol. 2, no 2, pp. 105-109, 2018.

54. Shchotkina N, Sokol A, Dolinchuk L, et. al. Different type of matrix for cardiac implants: biomedical and bioengineering aspects. *Cell Organ Transpl.* 2021; 9(1):54-58. DOI: 10.22494/cot.v8i1.122.

55. Gomes WJ, Leal JC, Jatene FB, et. al. Experimental Study and Early Clinical Application Of a Sutureless Aortic Bioprosthesis. *Case Reports Braz J Cardiovasc Surg.* 2015; 30(5):515-9. DOI: 10.5935/1678-9741.20150072.

56. Holoshitz N, Kavinsky CJ, Hijazi ZM. The Edwards SAPIEN Transcatheter Heart Valve for Calcific Aortic Stenosis: A Review of the Valve, Procedure, and Current Literature *Cardiol Ther.* 2012; 1(1):6. DOI: 10.1007/s40119-012-0006-8.

57. CryoLife, Inc. Post-market, Prospective Evaluation of PHOTO-oxidized Decellularized Bovine Pericardium Used as a Patch in Vascular Repair and Reconstruction Surgery [Электронный ресурс] / CryoLife, Inc. // National Library of Medicine. – 2020. – Режим доступа до ресурсу: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03669042>.

58. Iop L, Palmosi T, Dal Sasso E, Gerosa G. Bioengineered tissue solutions for repair, correction and reconstruction in cardiovascular surgery. *J Thorac Dis.* 2018; 10(Suppl 20): S2390-S2411. DOI: 10.21037/jtd.2018.04.27.

59. Salameh A, Greimann W, Vondrys D, et. al. Calcification or not. This is the question. A 1-year study of bovine pericardial vascular patches (CardioCel) in minipigs. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2018; 30(1):54-9. DOI: 10.1053/j.semtevs.2017.09.013.

60. Lam NT, Lam H, Sturdivant NM, Balachandran K. Fabrication of a matrigel-collagen semi-interpenetrating scaffold for use in dynamic valve interstitial cell culture. *Biomed Mater.* 2017; 12(4):045013. DOI: 10.1088/1748-605X/aa71be.

61. Herijgers P, Ozaki S, Verbeken E, et. al. The No-React anticalcification treatment: a comparison of Biocor No-React II and Toronto SPV stentless

bioprostheses implanted in sheep. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 1999; 11(4):171-5.

62. De Martino A, Milano AD, Bortolotti U. Use of Pericardium for Cardiac Reconstruction Procedures in Acquired Heart Diseases-A Comprehensive Review. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2021; 69(1):83-91. DOI: 10.1055/s-0039-1697918.

63. Shchotkina NV, Sokol AA, Galkin OYu, et. al. Optimized method of bovine pericardium decellularization for tissue engineering. *Wiad Lek.* 2021; 74(4):815-820. DOI: 10.36740/WLek202104101.

64. Obermiller JF, Hodde JP, McAlexander CS, et. al. A comparison of suture retention strengths of three biomaterials. *Med Sci Monit.* 2004; 10(1):I1-5.

65. Kim GE, Kwon TW, Cho YP, et. al. Carotid endarterectomy with bovine patch angioplasty: a preliminary report. *Cardiovasc Surg.* 2001; 9(5):458-62. DOI: 10.1016/ s0967-2109(01)00042-4.

66. Sokol AA, Grekov DA, Yemets GI, et. al. Comparison of bovine pericardium decellularization protocols for production of biomaterial for cardiac surgery. *Biopolym Cell.* 2020; 36(5):392-403. DOI: 10.7124/bc.000A3C.

67. Li X, Guo Y, Ziegler KR, Model LS, Eghbalieh SD, Brenes RA, Kim ST, Shu C, Dardik A. Current usage and future directions for the bovine pericardial patch. *Ann Vasc Surg.* 2011 May;25(4):561-8. doi: 10.1016/j.avsg.2010.11.007. Epub 2011 Jan 28. PMID: 21276709; PMCID: PMC3085588.

68. Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials.* 2006; 27(19):3675-3683.

69. Pawan KC, Yi Hong, Ge Zhang. Cardiac tissue-derived extracellular matrix scaffolds for myocardial repair: advantages and challenges. *Regen Biomater.* 2019; 6(4):185-199. DOI: 10.1093/rb/rbz017.

70. Sokol AA, Grekov DA, Yemets GI, Galkin AYu, et. al. The efficiency of decellularization of bovine pericardium by different concentrations of sodium dodecyl sulfate. *Innov Biosyst Bioeng.* 2020; 4(4):189-198. DOI: 10.20535/ibb.2020.4.4.214765.

71. Shchotkina NV, Sokol AA, Dolinchuk LV, et. al. The effect of sterilization on the bovine pericardium scaffold decellularized by the glutaraldehyde-free technology. *JBEB* 2021; 8:28-35. DOI: 10.11159/jbeb.2021.004.

72. Redigueri, C.F.; Sassonia, R.C.; Dua, K.; Kikuchi, I.S.; de Jesus Andreoli Pinto, T. Impact of sterilization methods on electrospun scaffolds for tissue engineering. *Eur. Polym. J.* 82, 181–195, 2016.

73. Dai, Z.; Ronholm, J.; Tian, Y.; Sethi, B.; Cao, X. Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications. *J. Tissue Eng.* 7, 2016.

74. Gorna, K.; Gogolewski, S. The effect of gamma radiation on molecular stability and mechanical properties of biodegradable polyurethanes for medical applications. *Polym. Degrad. Stab.* 79, 465–474, 2003.

75. Selim, M.; Bullock, A.J.; Blackwood, K.A.; Chapple, C.R.; MacNeil, S. Developing biodegradable scaffolds for tissue engineering of the urethra. *BJU Int.* 107, 296–302, 2011.

76. Щоткіна Н.В., Сокол А.А., Долінчук Л.В., та ін. Оптимальні умови стерилізації тканинно модифікованого імпланту на основі перикарду великої рогатої худоби // Тези за матеріалами: XV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини» (19 листопада 2021 р., м. Запоріжжя) – Запоріжжя, 2021. С. 341-342. – 411 с.

77. УСКОРИТЕЛЬ ЭЛЕКТРОНОВ В 4 РАЗА УВЕЛИЧИВАЕТ СРОК ХРАНЕНИЯ РЫБНЫХ ПРЕСЕРВОВ [Електронний ресурс] // Официальный сайт НГУ. – 2017. – Режим доступа до ресурсу: <http://viu.tsu.ru/news/news-5-100/4249/>.

78. Электронно-лучевая стерилизация [Електронний ресурс] // НПП «ТОРИЙ» – Режим доступа до ресурсу: <https://www.toriy.ru/services/electron-beam-sterilization/>.

79. Патент від 08.12.2019 №219.017.ЕАА1 на спосіб отримання імплантату на основі стерильного деорганізованого матриксу.

80. Патент «Electron Beam Sterilised Medical Device With Bioactive Coating», який надано Kordis Korporejshn (US), автори Falotiko Robert (US), LI CHensyue (US), Ngujen Taj Minkh (US), Parker Teodor L. (US), Chzhao Dzhonaton Z. (US).

81. Sc Korpershoek, J.V.; de Windt, T.S.; Hagmeijer, M.H.; Vonk, L.A.; Saris, D.B. Cell-Based Meniscus Repair and Regeneration: At the Brink of Clinical Translation?: A Systematic Review of Preclinical Studies. *Orthop. J. Sports. Med.* 2017, 5, 2325967117690131.

82. Mirsadraee, S.; Wilcox, H.E.; Watterson, K.G.; Kearney, J.N.; Hunt, J.; Fisher, J.; Ingham, E. Biocompatibility of acellular human pericardium. *J. Surg. Res.* 2007, 143, 407–414.

83. Cebotari S, Mertsching H, Kallenbach K, Kostin S, Repin O, Batrinac A et al. Construction of Autologous Human Heart Valves Based on an Acellular Allograft Matrix. *Circulation.* 2002; 106: I-63–I-68.

## ДОДАТКИ

## Додаток А. Технологічна схема виробництва біосумісного імплантату

