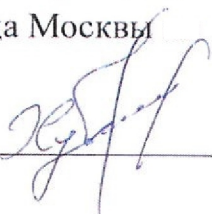


**ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ**  
**ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ**

**СОГЛАСОВАНО**

Главный внештатный специалист  
по трансплантологии  
Департамента здравоохранения  
города Москвы

 М.И. Хубутя

30 МАЯ 2022 г.

**РЕКОМЕНДОВАНО**

Экспертным советом по науке  
Департамента здравоохранения  
города Москвы 10



01 ИЮНЯ 202\_ г.

**ОБЕСПЕЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**  
**АЛЛОГЕННЫХ ТРАНСПЛАНТАТОВ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА**

Методические рекомендации № 67

Москва – 2022

УДК: 575.1+611-018-089.843-061.64

ББК: 54.537

авторский знак: О-13

**Организация-разработчик:**

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

**Авторы:**

Боровкова Наталья Валерьевна, д.м.н., заведующая научным отделением биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

Пономарев Иван Николаевич, к.м.н., старший научный сотрудник научного отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

Макаров Максим Сергеевич, к.б.н., старший научный сотрудник научного отделения биотехнологий и трансфузиологии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

Миронов Александр Сергеевич, к.м.н. заведующий отделением консервирования тканей и производства трансплантатов ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

**Рецензенты:**

**Благовестнов Дмитрий Алексеевич** д.м.н., профессор, декан хирургического факультета ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России»

**Минина Марина Геннадьевна** д.м.н., профессор РАН, заведующая Московским городским координационным центром органного донорства ГБУЗ ГКБ им. С. П. Боткина ДЗМ

**Обеспечение безопасности и контроль качества аллогенных трансплантатов тканей человека** / сост. Н.В. Боровкова, И.Н. Пономарев, М.С. Макаров, А.С. Миронов–М.: ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», 2022. – 33с.

Методические рекомендации объединяют актуальные подходы к обеспечению безопасности и контролю качества на всех этапах производства трансплантатов из тканей человека. Представлены классификация и базовые принципы организации тканевого медицинского учреждения. Описаны процедура и критерии освидетельствования доноров при прижизненном и посмертном заборе тканей, биоматериала на этапе карантинизации. Изложены основные принципы модификации тканей, способы консервации и стерилизации трансплантатов. Дан расширенный перечень параметров заключительной оценки трансплантатов для принятия решения о возможности их клинического применения.

Методические рекомендации разработаны в ходе выполнения научно-исследовательской работы «Совершенствование процессов изготовления и повышение регенераторного потенциала тканевых трансплантатов, используемых в лечении больных с неотложными состояниями».

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|        |                                                                                                                   |    |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.     | Введение.....                                                                                                     | 5  |
| 2.     | Базовые принципы организации тканевого медицинского учреждения.....                                               | 7  |
| 3.     | Донорский этап .....                                                                                              | 11 |
| 3.1.   | Освидетельствование донора.....                                                                                   | 12 |
| 3.1.1. | Совокупный перечень противопоказаний к изъятию тканей в связи с невозможностью их последующего использования..... | 13 |
| 3.2.   | Забор тканей .....                                                                                                | 15 |
| 4.     | Карантинизация тканей .....                                                                                       | 18 |
| 5.     | Производство трансплантатов.....                                                                                  | 20 |
| 5.1.   | Модификация.....                                                                                                  | 21 |
| 5.2.   | Консервирование и упаковка.....                                                                                   | 21 |
| 5.3.   | Финишная стерилизация.....                                                                                        | 23 |
| 5.4.   | Хранение.....                                                                                                     | 25 |
| 6.     | Выходной контроль .....                                                                                           | 25 |
| 6.1.   | Маркировка трансплантатов.....                                                                                    | 28 |
| 7.     | Заключение.....                                                                                                   | 29 |
| 8.     | Литература.....                                                                                                   | 30 |

## 1. Введение

Использование современных аллогенных трансплантатов тканей человека в клинической практике позволяет специалистам достигнуть стойкого клинического и положительного экономического эффектов (табл. 1).

Таблица 1. Клинические и экономические эффекты применения аллогенных трансплантатов тканей [1,11,13-15]

| Тип трансплантата                  | Патология                                     | Клинический эффект                                                                                                                                                        | Экономический эффект                                                                                                                                                           |
|------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Повязка на основе коллагена 1 типа | Ожог 2 ст.<br>Фотохимический дерматит         | Увеличивают на 40 % скорость эпителизации раны                                                                                                                            | Уменьшается на 10-14 койко-дней длительность госпитализации в ожоговом отделении                                                                                               |
| Трансплантаты костной ткани        | Переломы, в том числе с утратой костной ткани | Остеокондукция и остеоиндукция<br><br>Биодеградация и замещение собственными тканями                                                                                      | Уменьшение сроков сращения перелома<br><br>Отсутствие необходимости дополнительных вмешательств                                                                                |
| Бесклеточный матрикс дермы         | Ожог 3 ст.<br>Рана с дефицитом тканей         | Увеличивают на 30 % скорость подготовки раны к аутодермопластике<br><br>Снижают потери плазмы и электролитов<br><br>Снижают вероятность бактериальной обсемененности раны | Уменьшается на 10-12 койко-дней длительность госпитализации в ожоговом или травматологическом отделении<br><br>Снижение расходов на трансфузионную и антибактериальную терапию |

Тканевые трансплантаты можно условно разделить на следующие типы:

- с жизнеспособными клетками донора («живые»).
- девитализированные – при изготовлении клетки донора инактивированы или разрушены, но не удалены из трансплантата.
- децеллюляризованные (бесклеточные) – при изготовлении клетки донора полностью удалены из трансплантата.

Все трансплантаты тканей, вне зависимости от того, к какому типу они относятся, должны быть безопасны и качественны.

Безопасность, в свою очередь, определяется прежде всего стерильностью и отсутствием токсичности [1-4,16,32]. По тому, могут ли трансплантаты по завершении изготовления дополнительно быть подвергнуты воздействию факторов, обеспечивающих гибель микроорганизмов и вирусов, их делят на:

- Нестерилизуемые. Как правило, это трансплантаты, содержащие жизнеспособные клетки. Для них сохранение стерильности необходимо на всех этапах изготовления.
- Стерилизуемые. Например, лиофилизированные трансплантаты костной ткани или биологические повязки.

Токсичность ткани может быть связана с развитием некробиотических процессов. Соответственно, исходно токсичный биоматериал следует идентифицировать и исключать из работы до или на этапе забора. Также токсичными могут стать трансплантаты ткани в процессе консервации и модификации при использовании химических веществ. В этом случае на заключительных этапах производства трансплантатов должна быть предусмотрена тщательная элиминация токсичных веществ с контролем безопасности тканей. Под термином «качество трансплантата» понимают совокупность его параметрических критериев и биологических свойств, обеспечивающих достижение прогнозируемого результата при применении (в соответствии с показаниями).

Таким образом, высокая востребованность аллогенных трансплантатов тканей человека требует их надлежащей безопасности и качества. При этом она складывается из ряда факторов, обусловленных как исходными параметрами донорской ткани, так и манипуляциями, осуществляемыми в процессе изготовления трансплантата. Целью данных методических рекомендаций является обобщение накопленного опыта и современных

тенденций, в том числе зарубежных, в обеспечении безопасности и качества аллогенных трансплантатов тканей человека.

## **2. Базовые принципы организации тканевого медицинского учреждения**

Тканевое медицинское учреждение (ТМУ) – отделение или лаборатория, основным направлением работы которых является получение тканей, трансплантатов или медицинских изделий на их основе [8,17,33]. ТМУ условно можно разделить на учреждения полного и неполного цикла. Несмотря на то, что конечный результат работы ТМУ обоих типов совпадает, их организация имеет некоторые различия.

Как известно, полный цикл производства тканевых трансплантатов включает:

1. Донорский этап. Объединяет комплекс мероприятий, направленных на получение донорских тканей. В нем выделяют: *освидетельствование донора и забор тканей.*
2. Карантинизацию тканей. Изолированное хранение тканей до принятия решения о возможности их использования для производства трансплантатов на основании результатов дополнительных исследований.
3. Изготовление трансплантата – серия обработок, обеспечивающих получение из донорской ткани трансплантата.
4. Выходной контроль трансплантата. Изолированное хранение готовых упакованных трансплантатов до принятия решения о возможности использования их в клинической практике на основе результатов объективных исследований.



Рисунок 1. Организация работы по получению тканевых трансплантатов

Объединение всех звеньев технологической цепи внутри одного ТМУ является достаточно трудоемкой задачей. Необходимо развертывание и оснащение помещений для работы на каждом этапе, таких как: приемное отделение, смотровые, комнаты санитарной обработки и временного размещения донора тканей, стерильные операционные, карантинное хранилище, производственные комнаты, лаборатория выходного контроля качества, хранения и выпуска готовых трансплантатов. Соответственно, широкий спектр решаемых задач в рамках одного ТМУ требует соответствующего штата специалистов разных профилей. Таким образом, тканевое медицинское учреждение полного цикла представляет собой организацию со сложной структурой и синхронизацией процессов производства, требующую значительных финансовых затрат [7].

В то же время ТМУ «неполного» цикла, как правило, проводят только карантинизацию тканей, их модификацию и упаковку. При этом предпочтение отдают девитализированным, децеллюляризованным трансплантатам, подлежащим стерилизации [1,8]. Соответственно, ТМУ неполного цикла могут иметь значительно более простое устройство, требующее меньших финансовых затрат, но при этом ограниченные возможности.

Таким образом, у принципа организации ТМУ как по полному, так и неполному циклу нет принципиальных преимуществ. И выбор между ними основан на потребностях медицинских учреждений и технических, финансовых возможностях.

Вне зависимости от того, по какому типу организовано производство, оно должно быть безопасно для занятого персонала и окружающей среды. В соответствии с этим все процессы и помещения должны соответствовать действующим на территории РФ санитарным нормам и правилам:

- СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»
- СанПиН 2.1.3.684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»

Помимо этого при планировании и развертывании ТМУ целесообразно обратить особое внимание на следующие элементы:

1. Персонал, обладающий соответствующими компетенциями в области работы с тканями человека.
2. Инструментарий, реактивы и расходные материалы. Предпочтение следует отдавать стерильным и, по возможности, одноразовым, имеющим регистрационные удостоверения (РУ), свидетельствующие о возможности использования в клинической практике (*англ. clinical use*).
3. Помещения. Следует предусмотреть двухэтапный карантин с обособленным размещением в холодильных и морозильных камерах для донорских тканей, а также отдельный для готовой продукции,

проходящей выходной контроль качества и безопасности. Также целесообразно отдельно предусмотреть работу с трансплантатами, содержащими жизнеспособные клетки. Приветствуется выделение узкоспециализированных помещений для обработки и модификации тканей. При этом хранение биоматериала на период карантина, после его прохождения и на разных этапах обработки, готовой продукции до прохождения выходного контроля безопасности и качества и после него целесообразно организовать в отдельных складских помещениях.

4. Пути движения донора, его тканей, промежуточного продукта и готовых трансплантатов проработать таким образом, чтобы исключить их пересечение в одном месте в одно время. Это позволит исключить вероятность их контакта, смешивания и перекрестной контаминации патогенными агентами.
5. Документация. Структурировать документацию таким образом, чтобы обеспечить возможность проследить всю технологическую цепочку от донора до готового трансплантата. Одновременно с этим интегрировать в стандартные операционные процедуры (СОП) заполнение «контрольных списков» (чек-листов). Это позволит персоналу в ходе работы оперативно контролировать корректность ее выполнения.
6. Цифровая система учета поступления тканевых доноров, заготовки тканей и производства трансплантатов должна позволять получить следующие данные:
  - Перечень всех доноров за указанный период;
  - Возраст доноров и другие социо-демографические параметры;
  - Результаты патологоанатомического исследования доноров;
  - Стандартная операционная процедура по забору и заготовки тканей;

- Результаты лабораторных исследований на биосовместимость и биобезопасность тканевых трансплантатов;
- Записи о возможных факторах риска, связанных с медико-биологическими или социо-демографическими характеристиками донора (наличие хронических заболеваний, инфекционных заболеваний, признаки социальных отклонений).

### 3. Донорский этап

В аспекте обеспечения безопасности и качества трансплантатов на данный этап возлагается задача снижения вероятности забора от донора тканей, непригодных для их изготовления.

Донор тканей – человек, ткани которого планируется использовать или уже используются в целях изготовления трансплантатов. При этом в роли донора человек может выступать как при жизни, так и посмертно.

**Прижизненным донором тканей** может быть дееспособный человек, у которого в рамках лечения по основному заболеванию планируется или уже выполнено иссечение тканей, не подлежащих реплантации (фрагменты конечностей, костной ткани и т. д.) [23]. Такие ткани являются утильными и, соответственно, потенциально могут быть использованы для производства тканевых трансплантатов. Процедура прижизненного донорства начинается с получения добровольного информированного согласия пациента на использование утильных тканей, полученных в ходе оказания пациенту медицинской помощи по основному заболеванию, для изготовления тканевых трансплантатов. Информированное согласие оформляют в письменном виде с указанием фамилии, имени и отчества донора, номера истории болезни, утильных тканей или фрагментов тела, которые планируется изъять. В случае положительного решения пациента его признают потенциальным донором и переходят к обследованию.

**Посмертным донором тканей** человек может считаться с момента начала проведения в отношении него процедуры констатации смерти (биологической смерти или смерти мозга) в соответствии с законодательством Российской Федерации в сфере охраны здоровья [16]. В этом случае проводят обследование и планируют забор тканей на основании презумпции согласия, закрепленной в Федеральном законе.

### **3.1. Освидетельствование донора**

Освидетельствование донора проводят для определения целесообразности забора тканей, основанной на возможности последующего использования их для изготовления трансплантата.

При освидетельствовании используют максимально доступный арсенал методов. При этом ориентируются на положения нормативных актов, регулирующих не только посмертное донорство органов и тканей, но и смежные медицинские отрасли. Стоит отметить, что при отсутствии кровоснабжения ткани всю процедуру стремятся структурировать таким образом, чтобы в кратчайшие сроки получить как минимум предварительное заключение, достаточное для предварительного суждения о целесообразности забора тканей. В этом случае после изъятия тканей обязательно проводят дополнительное исследование донора с целью формирования полноценного окончательного заключения о возможности изготовления трансплантатов из изъятых тканей.

Освидетельствование начинают со стандартных медицинских процедур и манипуляций, направленных на сбор анамнеза, с истории смерти, анализа сопутствующей документации, в том числе результатов аппаратных, инструментальных и лабораторных исследований, осмотра донора и тканей (предполагаемых для изъятия). Минимальный объем лабораторных исследований включает определение группы крови, диагностику ВИЧ, инфекционных вирусных гепатитов В и С, сифилиса [17, 20]. При этом обследование на инфекционные заболевания проводят в 2 этапа. На первом этапе используют быстрые/простые тесты (экспресс-тесты). При

отрицательных результатах тестов первого этапа обследования донор может быть направлен на изъятие тканей.

На втором этапе проводят исследования крови донора с использованием сертифицированных иммуноферментных тест-систем для диагностики ВИЧ, инфекционных вирусных гепатитов В и С, сифилиса [9]. Такой подход позволяет при необходимости в кратчайшие сроки выявить носителей гемотрансмиссивных заболеваний и сифилиса. Однако в случае нахождения донора на серонегативном этапе инфекционного процесса все равно сохраняется риск получения ложноотрицательного результата. Чтобы полностью подтвердить отсутствие нуклеиновых кислот ВИЧ, вирусов гепатитов В и С, необходимо применять методики ПЦР, широко используемые в трансфузиологии [10].

### **3.1.1. Совокупный перечень противопоказаний к изъятию тканей в связи с невозможностью их последующего использования**

Абсолютные противопоказания – те, при которых забор тканей не проводится никогда [20-23]:

- Возраст донора на момент обследования или смерти менее 18 лет, более 65 лет.
- Некротические изменения. При этом учитывают даже косвенные признаки. Так, если время с момента прекращения кровоснабжения ткани или смерти донора в целом превышает 6 часов, отказываются от забора крови, костного мозга; 12 часов – кожи, менисков, сухожилий; 24 часа – костей, сухожилия для получения коллагена, твердой мозговой оболочки.
- Онкологические заболевания. Как на момент обследования, так и в анамнезе.
- Антитела к *Treponema pallidum*.
- Антитела к вирусу иммунодефицита человека (1 и 2 типа) или фрагменты их нуклеиновых кислот.

- Антитела к вирусам гепатитов В, С или фрагменты их нуклеиновых кислот.
- Педикулез, чесотка.
- Инфекционные заболевания. Вне зависимости от локализации.
- Трофические язвы, гнойничковые заболевания кожи, желтушность, сыпь, раны, многочисленные ссадины.

Относительные противопоказания – те, которые увеличивают вероятность получения из тканей структурно неполноценных трансплантатов или потенциально опасных трансплантатов при клиническом использовании [22-24]. Соответственно, доноры с относительными противопоказаниями относятся к субоптимальным – при работе с ними нужно проявлять повышенное внимание, а спектр тканей, возможных для изъятия, ограничен.

Относительные противопоказания на основании данных анамнеза и осмотра:

- Генетические, системные или хронические заболевания, при которых наблюдается деформация тканей, подлежащих изъятию [25];
- Гемофилия или другие нарушения свертывания крови;
- Употребление инъекционных форм лекарственных или наркотических препаратов в немедицинских целях;
- Вступление в сексуальный контакт с носителями гемотрансмиссивных инфекций в течение последнего года;
- Нанесение татуировок или пирсинга в течение последних 12 месяцев;
- Лечение инфекционных заболеваний, вызванных *Chlamydia trachomatis* или *Neisseria gonorrhea*, лечение болезни Крейтцфельда-Якоба (спонгиозной энцефалопатии) в течение последних 12 месяцев;
- Деменция или других нейродегенеративные заболевания центральной нервной системы.

В международных ассоциациях банков тканей [20, 28] в качестве относительных противопоказаний для донорства выделяют также наличие антител или фрагментов нуклеиновой кислоты к:

- Спонгиозной энцефалопатии (коровье бешенство);
- Вирусу лихорадки Западного Нила;
- Т-клеточному цитомегаловирусу (тип 1 и 2).

Организованный таким образом этап освидетельствования донора позволяет снизить вероятность забора тканей, непригодных для изготовления трансплантатов.

### ***3.2. Забор тканей***

Забор тканей является продолжением донорского этапа. Его целью является получение ткани путем проведения операции без ухудшения ее характеристик. При этом все манипуляции с тканями человека, как на этапе сбора, так и последующих обработках осуществляют в соответствии с государственными актами, регулирующими обращение тканей человека, и соответствующими этическими нормами.

***Условия забора*** в значительной степени определяют стерильность получаемых тканей. Поэтому забор биоматериала для изготовления трансплантатов с жизнеспособными клетками или не подлежащими стерилизации неукоснительно проводят в стерильной операционной с соблюдением правил асептики и антисептики. При этом перед направлением тканей на карантин с них дополнительно берут посеvy для бактериологического исследования на стерильность.

Для изготовления стерилизуемых трансплантатов допускается изъятие тканей в чистых условиях.

***Последовательность забора*** тканей определяют, руководствуясь двумя принципами:

1. Первыми забирают ткани, в которых требуется сохранить жизнеспособные клетки. Как известно, выраженность способности переживать прекращение поступления кислорода и нутриентных веществ варьируется у разных типов клеток. Соответственно, в первую очередь забирают ткани, наиболее чувствительные к гипоксии, что позволяет сохранить их структуру и избежать накопления продуктов некробиоза.
2. Первыми забирают ткани, предназначенные для изготовления пестерилизуемых трансплантатов. Данный принцип основан на том, что обеспечение надлежащего уровня асептики и антисептики до «нестерильного» забора является менее трудоемким и более вероятным, чем после него.

В случае расположения в одной анатомической области тканей с одинаковым приоритетом исходят из потребности ТМУ в трансплантатах, сложности хирургического вмешательства.

При **прижизненном донорстве**, как указано ранее, забирают только утильные ткани. Соответственно, их иссекают в рамках оказания медицинской помощи по основному заболеванию.

Изъятие тканей в случае **посмертного донорства** может быть приведено как самостоятельными операциями, так и в рамках забора органов. При этом смерть донора позволяет одномоментно получить от него значительное количество тканей разных типов. Большинство используемых для этого методов основано на хирургических пособиях, применяемых в клинической практике. В частности, изъятие расщепленных лоскутов кожи, сосудов, сухожилий, менисков и других тканей проводят по стандартным методикам, подразумевающим наиболее простой доступ к ним [11,17,36]. В случаях, когда способ-прототип не обеспечивает надлежащей эффективности или не может быть осуществлен одновременно с основной операцией (посмертным забором органов), его адаптируют. Так, например, проводят забор крови путем канюлизации яремной вены и сонной артерии или сбор костного мозга через

одноразовую многоканальную закрытую систему во время эксплантации органов [16].

Забор тканей самостоятельной операцией является классическим примером работы ТМУ полного цикла, оснащенного как специализированными смотровыми, так и отдельными стерильными операционными. Он выгодно отличается возможностью полноценно планировать объем и последовательность операций. Тем самым обеспечивает наибольшую эффективность работы с донором, как за счет безопасности забранных тканей, так и их количества.

Вторым вариантом посмертного донорства тканей является забор от мультиорганных доноров. В этом случае, как и при прижизненном донорстве, забор тканей подчинен основной операции. Соответственно, используют методики, не влияющие на ход эксплантации органов, или проводят забор тканей после завершения изъятия органов.

При изъятии тканей у донора проводят забор и пишут направление на исследования образцов крови для выполнения второго этапа лабораторного обследования на наличие трансмиссивных инфекций. Также на бактериологическое исследование направляют фрагменты биоматериала или мазки-отпечатки для оценки стерильности тканей, предназначенных для изготовления нестерилизуемых трансплантатов. Изъятые ткани помещают на карантин до получения результатов соответствующих лабораторных исследований и, в случае посмертного донорства, танатологического обследования.

На время карантина ткань консервируют для предотвращения структурных изменений. Поэтому в случае забора тканей для получения трансплантатов с жизнеспособными клетками их сразу помещают в соответствующие консервирующие реагенты и условия. При этом допускается два варианта:

- Помещение тканей не более чем на 24 часа в питательную среду с антибиотиком и последующим криоконсервированием. Этот

вариант предпочтителен при наличии возможности получения результатов подтверждающих тестов на трансмиссивные инфекции и сифилис в течении 24 часов.

- криоконсервирование сразу после забора.

Напротив, если планируется изготовление децеллюляризированного трансплантата, то для ткани создают условия, способствующие контролируемому разрушению клеток, но при этом препятствующие нарушению ее структуры

Таким образом, осуществляя забор по описанным правилам, удастся получить ткани с сохранением их безопасности и качества на уровне, достаточном для изготовления трансплантатов. А в совокупности весь донорский этап повышает как безопасность, так и экономичность работы ТМУ.

#### **4. Карантинизация тканей**

Карантинизация тканей является ключевым связующим элементом между донорским этапом и производством трансплантатов. По сути, это один из основных этапов осуществления контроля безопасности и качества, на котором принимают окончательное решение о возможности использования тканей человека для изготовления трансплантатов. При этом определяющим является подтверждение методами объективного анализа отсутствия у донора противопоказаний для использования его тканей с целью изготовления трансплантата, скрытых или не выявленных по объективным причинам на этапе его освидетельствования. Соответственно, объем проводимых исследований и длительность карантинизации имеет обратную зависимость от полноты освидетельствования донора до изъятия тканей. Отдельно стоит отметить, что в случае посмертного донорства значимый вклад в итоговый результат вносит танатологическое исследование. Для тканей, предназначенных для получения не стерилизуемых трансплантатов,

определяющим является результат их бактериологического исследования после забора.

Карантинное хранение включает 2 этапа. При этом для предотвращения ухудшения качества биоматериала, как было указано ранее, его консервируют.

На первом этапе (Карантин 1) ткани хранят до получения результатов исследования на наличие трансмиссивных инфекций. При этом ткани для изготовления стерилизуемых и нестерилизуемых трансплантатов хранят отдельно. В случае выявления у донора трансмиссивных инфекций все изъятые ткани подлежат утилизации в соответствии с СанПин как отходы класса Б (медицинские отходы). При отсутствии трансмиссивных инфекций ткани перемещают в Карантин 2 и хранят до получения результатов всех остальных исследований. Выбраковке после Карантина 2 подлежат ткани в следующих случаях:

1. Получение дополнительных данных о наличии у донора абсолютного противопоказания к использованию его тканей с целью изготовления трансплантатов. В этом случае ткани подлежат утилизации как отходы класса Б (медицинские отходы).
2. Выявление отсутствия стерильности тканей, предназначенных для изготовления нестерилизуемых трансплантатов. В этом случае решают вопрос о возможности их перенаправления на изготовление стерилизуемых трансплантатов. При положительном решении их также выпускают из карантина, но с изменением назначения. При отрицательном — биоматериал утилизируют как отходы класса Б (медицинские отходы)

Организованный таким образом карантин тканей позволяет:

- Объективно оценить безопасность тканей даже в случае наличия у донора скрытых противопоказаний к их изъятию.

- Предотвратить ухудшение качества тканей во время карантинного хранения.
- Снизить вероятность контакта и перемешивания тканей от разных доноров.

## 5. Производство трансплантатов

Производство трансплантата из тканей человека – это совокупность процессов, направленных на их модификацию, консервацию и упаковку, а также зачастую финишную стерилизацию с целью получения медицинского изделия. При этом, как только ткань подвергается какому-либо из указанных процессов, она считается заготовкой трансплантата до прохождения выходного контроля.

В аспекте обеспечения безопасности и качества трансплантатов все элементы производства должны препятствовать приобретению или сохранению конечным продуктом свойств, способных нанести здоровью пациента при применении. В этой связи на всех этапах производства по умолчанию уделяется особое внимание подбору расходных материалов, реагентов и, в случае необходимости, последующей процедуре отмытия от них или детоксикации заготовок трансплантатов. Помимо этого для предотвращения случайного смешивания тканей от разных доноров вводят временную маркировку. Она обязательно включает индивидуальный номер донора (номер истории смерти) и ФИО донора ткани. Дополнительно может содержать тип исходной ткани и тип трансплантата (планируемый).

Наносят временную маркировку как на общий контейнер, в котором перемещают и хранят между этапами модификации заготовки трансплантатов из тканей одного донора, так и на емкости, в которых проводят модификацию (на время нахождения в них заготовки трансплантата).

### 5.1. Модификация

Модификация направлена на придание заготовкам трансплантатов целевых характеристик [123, 7, 10, 16, 19, 21]. Среди них выделяют:

параметрические (линейные размеры и форма, перфорации, пористость или сетчатая структура), физические (агрегатное состояние, вязкость, эластичность, упругость, степень минерализации, гидрофильность и гидрофобность), биологические (жизнеспособность клеток или, наоборот, удаление их и продуктов цитолиза, наличие и спектр цитокинов).

При модификации в большинстве случаев исключают смешивание тканей и заготовок трансплантатов, полученных от разных доноров [17,26-30].

Подходы, применяемые при модификации заготовок трансплантатов:

- Обезжиривание
- Депротеинизация
- Деминерализация
- Девитализация, децеллюляризация
- Совмещение с криопротектором
- Потенцирование биологических свойств
- Экстракция белков или неорганических соединений.

В конце этапа модификации необходимой является полная элиминация или нейтрализация потенциально опасных веществ, использованных при получении тканевого трансплантата, а также приведение к физиологическим значениям других параметров трансплантатов, способных влиять на гомеостаз организма пациента после применения.

## **5.2. Консервирование и упаковка**

Последовательность консервации и упаковки трансплантата зависит от того, является ли трансплантат стерилизуемым или нестерилизуемым, а также от способа консервации. Стерилизуемые трансплантаты, как правило, сначала консервируют, а затем упаковывают, а нестерилизуемые – наоборот, сначала выполняют упаковку в герметичные стерильные индивидуальные контейнеры.

Основными способами подготовки трансплантатов к длительному хранению с сохранением их высокой безопасности и качества являются:

- Лيوфилизация – сушка объекта в камере с разреженной атмосферой при температурах, не приводящих к деградации органических соединений. Метод применим к стерилизуемым не упакованным трансплантатам, либо если упаковка на время консервирования сохраняет сообщение внутренней среды с окружающей. Преимуществом использования метода является относительная простота организации последующего хранения. Метод не применим к нестерилизуемым трансплантатам.
- Замораживание (криоконсервирование) – хранение трансплантата в условия низких и сверхнизких температур. Метод применим для нестерилизуемых трансплантатов, в том числе для трансплантатов с жизнеспособными клетками. При этом для предотвращения негативных эффектов низких температур на клетки используют криопротекторы. Наиболее распространенным криопротектором является 10 % раствор DMSO. Соответственно, замораживание объекта проводят только после упаковки в специальный герметичный контейнер (пакет, пробирку). К особенностям консервации с использованием низких и сверхнизких температур относится необходимость их поддержания при последующем хранении. Это, в свою очередь, обуславливает необходимость организации специализированного криобанка.

Отдельно стоит отметить, что консервация трансплантатов в стерилизующих жидкостях (например, в этиловом спирте) нецелесообразна. При всей привлекательности идеи (достичь двух эффектов за одну процедуру) реализация такого подхода приводит к деградации органических соединений в составе трансплантатов, кроме того, возникает необходимость тщательной отмывки таких трансплантатов перед применением.

Упаковка трансплантатов при любом способе консервации должна соответствовать требованиям ГОСТ ISO 11607-1-2018 «Упаковка для медицинских изделий, подлежащих финишной стерилизации». Могут быть использованы пакеты, контейнеры, флаконы, способные длительное время сохранять герметичность и стерильность внутренней среды [2, 3, 12, 17, 25]. При этом предпочтение стоит отдавать упаковке, содержащей метки, свидетельствующие о стерильности продукции.

### **5.3. Финишная стерилизация**

Стерилизацию трансплантатов тканей проводят в учреждениях, имеющих соответствующую лицензию на оказание услуг по стерилизации медицинских изделий. При этом руководствуются ГОСТ Р 58162-2018 (ISO/TS 16775:2014) «Стерилизация медицинской продукции».

Эффективность стерилизации оценивают по уровню гарантии стерильности – sterility assurance level (SAL), который отражает вероятность того, что один стерилизованный продукт по отношению к общему количеству может быть инфицирован. В США требуемый уровень SAL составляет 1:1000 (SAL  $10^3$ ), многие мировые тканевые банки выдвигают норму для SAL 1:1000 000 (SAL  $10^6$ ) [25,32,34]. На сегодняшний день такой высокий уровень SAL достигается при стерилизации трансплантатов оксидом этилена или ионизирующим излучением 25 кГр («золотой стандарт») и выше [25-29].

Во многих источниках для инактивации ДНК считается достаточной доза 15-20 кГр [17, 33-35]. Ионизирующее излучение не имеет ограничений по проникающей способности, однако может вызывать образование белковых сшивок и других деформаций в составе тканевых трансплантатов, что может снижать механическую прочность трансплантата.

В свою очередь оксид этилена не влияет на механическую прочность волокон, однако при контакте оксида этилена с тканевыми трансплантатами образуются потенциально опасные вещества – этиленхлоргидрин и этиленгликоль, которые способны вызывать гемолиз, воспаление, обладают токсическими, мутагенными и канцерогенными свойствами [30]. Кроме того,

оксид этилена имеет ограниченную проницаемость при работе с трансплантатами большого размера и плотности (губчатая кость, кости свода черепа, твердая мозговая оболочка).

В настоящее время перспективным способом стерилизации аллогенных трансплантатов представляется технология обработки сверхкритическим  $\text{CO}_2$  ( $\text{SCCO}_2$ ) [18]. Сверхкритическая жидкость (СКЖ) представляет собой особую агрегатную форму вещества, которое достигается при давлении и температуре выше его критической точки. СКЖ одновременно проявляет свойства жидкости и газа, поэтому в состоянии СКЖ вещество способно проникать через твердые тела, как газ, и растворять материалы, как жидкость. В последние годы появились работы, где метод  $\text{SCCO}_2$  был апробирован для стерилизации менисков и костных трансплантатов [19, 30-32], стерилизации аллогенных девитализированных сосудов. Было показано, что стерилизация сверхкритическим  $\text{CO}_2$  позволяет добиться такого же эффекта инактивации вирусов, что и ионизирующее излучение. Также было показано, что  $\text{SCCO}_2$  не вызывает видимого разрушения внеклеточного матрикса тканей, сохраняет или даже увеличивает прочность коллагеновых волокон в их составе [36, 38-39]. Однако в клинической практике трансплантаты, стерилизованные по методу  $\text{SCCO}_2$ , еще не были апробированы.

В качестве альтернативы стерилизации рекомендуется проводить патоген-инактивацию с использованием лицензированных реагентов и оборудования. Патоген-инактивация основана на введении определенных веществ в раствор с клетками или трансплантатом, которые под действием УФ-излучения вызывают фотохимическую реакцию, инактивирующую ДНК патогенов [4, 34, 35]. В этом случае патоген-инактивация представляет собой один из этапов модификации тканевого трансплантата.

#### **5.4. *Хранение***

Хранение является неотъемлемым элементом производства трансплантатов. При этом оно подразумевает отдельное размещение

трансплантатов, находящихся на этапе модификации, прошедших консервацию и упаковку, финальную стерилизацию.

На этапе модификации хранение трансплантатов проводится редко, т.к. технологическую цепь стремятся не разрывать. В случае вынужденной приостановки трансплантаты помещают не более чем на 24 часа в холодильник при температуре  $+4...+8\text{ }^{\circ}\text{C}$  либо замораживают.

После консервации и упаковки лиофилизированные трансплантаты хранят при комнатной температуре в защищенном от света месте. При этом стремятся как можно быстрее провести их финальную стерилизацию. После нее трансплантаты помещают в аналогичные условия, но отдельно, до прохождения выходного контроля. С момента стерилизации при соблюдении условий хранения срок годности составляет, как правило, 1 год.

В свою очередь для криоконсервированных герметично упакованных стерильных трансплантатов предельные сроки хранения составляют:

- а) в жидком азоте – до пяти лет;
- б) в электрических рефрижераторах – до трех лет при условии постоянного поддержания температуры ниже  $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; при температуре хранения  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  – до двух лет; при температуре  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  – 2 месяца.

Срок отсчитывают с даты консервации и упаковки трансплантата!

Во всех случаях хранить трансплантаты рекомендуется в помещениях, в которых регулярно проводится мониторинг инженерно-технических коммуникаций [24, 29-32].

## **6. Выходной контроль безопасности и качества**

Выходной контроль на безопасность и качество завершает весь процесс получения трансплантата из ткани человека. Оценка направлена на выявление у трансплантата свойств, которые могут вызвать в организме человека нежелательные реакции. Исследованию подвергают один случайно выбранный образец из каждой партии трансплантатов.

Оценку проводят по следующим параметрам:

- Стерильность – обязательна для всех типов трансплантатов. Исследование идентично проводимому на этапе карантинизации тканей.
- Истинные размеры – необходимы для оценки степени отклонения от целевых значений, заданных в начале производства. Помимо этого они позволяют провести адекватный подбор трансплантата при планировании его клинического применения. Измерение выполняют с использованием простых измерительных устройств.
- Прочностные характеристики – определяют у изделий, эффективность использования которых зависит от данного параметра. Исследование выполняют с использованием специализированных приборов, лабораторного оборудования.
- Водородный показатель (рН) – идеальное значение  $pH = 7,4 \pm 0,05$ . Допустимым является значение  $pH = 7 \pm 1$ , но только в тех случаях, когда трансплантат предполагается устанавливать в среду, имеющую буферную емкость, достаточную для приведения рН к физиологическому значению.
- Гистологическое строение – наличие и сохранность клеток, межклеточного матрикса. Позволяет оценить качество криоконсервирования или ревитализации трансплантатов с жизнеспособными клетками или, наоборот, децеллюляризации бесклеточным матриксом. Для исследования из фрагментов трансплантатов готовят гистологические препараты по соответствующим стандартным методикам с окрашиванием, как правило, гематоксилин-эозином или методом Ван-Гизона. Для оценки более широкого спектра гистологических характеристик используют:
  - гистохимические и цитохимические методы окрашивания с целью выявления в трансплантате конкретных веществ (белки,

углеводы, неорганические соединения, фрагменты ДНК и мембран клеток) [19, 36].

- анализ автофлуоресценции коллагена с целью оценки структурной целостности коллагеновых волокон и их топографии в трансплантате. Метод разработан и апробирован в НИИ СП им. Н. В. Склифосовского [6].
- анализ светорассеивания волокон тканевых трансплантатов (анизотропия) с целью оценки их компактизации и плотности [32].
- Цитотоксичность и другие критерии, закрепленные для медицинских изделий в ГОСТ ISO 10993-1-2011 «Изделия медицинские».

В НИИ им. Н. В. Склифосовского анализ цитотоксичности проводят на культуре мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга тканевых доноров 2-5 пассажа и сертифицированной линии фибробластов человека (получена в ГУ ИПиВЭ им. М. П. Чумакова РАМН в 1986 г., лицензирована ГИСК и разрешена для изготовления любых видов иммунобиологических препаратов) 20-25 пассаж [5].

Культивирование клеток проводится в стандартных чашках Петри или в 4-, 6- или 12-луночных планшетах. Для оценки биосовместимости в лунки с трансплантатом и в лунки без трансплантата (контроль) вносят суспензию клеток (10-50 тыс. на лунку) и культивируют клетки при 37 °C и концентрации CO<sub>2</sub> 5 % в течение трех суток с использованием стандартных сред и сывороток. Через трое суток культивирования проводят микроскопический анализ клеток в контрольных лунках и лунках, содержащих фрагменты тканевых трансплантатов. Оценивают характер распределения клеток по дну лунки, число клеток на дне лунки (тыс/см<sup>2</sup>), структурную целостность клеток и их

компонентов. Для исследования качества клеток в НИИ СП им. Н. В. Склифосовского разработаны способы оценки клеток с помощью витального окрашивания [5].

В случае несоответствия обследованного образца заданным значениям – рассматривают вопрос о возможности коррекции отклонения. При положительном решении всю партию трансплантатов отправляются на доработку. При отрицательном – на утилизацию как отходы класса Б (медицинские отходы).

Партии трансплантатов, успешно прошедшие выходной контроль, передаются на маркировку, после которой могут быть выданы в медицинские учреждения для клинического применения.

#### ***6.1. Маркировка трансплантатов***

Маркировку проводят только в отношении партии трансплантатов, успешно прошедших выходной контроль и допущенных для клинического использования. Специальная маркировка для тканевых трансплантатов не регламентирована нормативными актами. Для создания этикетки частично могут быть применены требования, принятые Советом Евразийской экономической комиссии 12 февраля 2016 г. № 27 «Об утверждении Общих требований безопасности и эффективности медицинских изделий, требований к их маркировке и эксплуатационной документации на них». На этикетке к тканевым трансплантатам должно быть отмечено:

- Наименование.
- Функциональное назначение.
- Сведения о производителе.
- Использование дополнительных веществ.
- Серийный номер или код партии трансплантата.
- Дата производства, сроки и нормы хранения.

- Информация о стерильности и методах стерилизации, результаты тестирования на гемотрансмиссивные инфекции.
- Требуемые соблюдения меры предосторожности.
- Данные об отсутствии токсичности.
- Указание на содержание специальных биологических компонентов.

При этом допускается использование эксплуатационных информационных знаков в соответствии с ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020.

## 7. Заключение

Тканевые трансплантаты позволяют решать многие клинические задачи, однако активное развитие тканевого банкинга в нашей стране сейчас отсутствует. Одной из основных проблем развития тканевой трансплантации в России является несовершенство нормативно-правовых документов, регулирующих работу отрасли, в том числе отсутствие стандартов и протоколов освидетельствования доноров, изъятия и карантинизации тканей, подтверждения безопасности и оценки качества тканевых трансплантатов.

Настоящие методические рекомендации отражают наше видение организации работы тканевых медицинских учреждений полного цикла с момента приема донора тканей до передачи трансплантата в клинику и его применения к пациенту. Организованный таким образом процесс получения тканевых трансплантатов позволяет обеспечить их надлежащее качество и безопасность применения в клинической практике.

## 8. ЛИТЕРАТУРА

1. Боровкова, Н. В.; Миронов, А. С.; Пономарев, И. Н.; Будаев, А. А. Современное состояние проблемы трансплантации тканей и клеток. организационно-методологическое обеспечение // Сборник: Клиники Москвы: практики устойчивого развития. Материалы форума организаторов столичного здравоохранения. – 2019. – С. 9.
2. Булатов, А. А.; Калинин, А. В.; Савельев, В. И. Современные способы изготовления, стерилизации и консервации деминерализованных костных трансплантатов // Травматология и ортопедия России. – 2005. – № 1. – С. 55-59.
3. Воробьев, К. А.; Божкова, С. А.; Тихилов, Р. М.; Черный, А. Ж. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. – 2017. – Т. 23. – № 3. – С.134-147.
4. Готье, С. В.; Хомяков, С. М. Пробелы и коллизии в правовом регулировании донорства и трансплантации тканей в Российской Федерации // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. –Т. 19. – № 5. – С. 16-17.
5. Макаров, М. С., Сторожева, М. В., Конюшко, О. И.; Боровкова, Н. В.; Пономарев, И. Н. Влияние концентрации тромбоцитарного фактора роста на пролиферативную активность фибробластов человека // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2013. – № 2. – С. 111-115.
6. Макаров, М. С.; Сторожева, М. В.; Боровкова, Н. В. Значение автофлюоресценции коллагеновых волокон для оценки биологических свойств тканевых трансплантатов // Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9. – № 2. – С. 83-90.
7. Миронов, А. С.; Боровкова, Н. В.; Макаров, М. С.; Пономарев, И. Н.; Андреев, Ю. В. Банки тканей. Мировой опыт. История развития и современные подходы. Трансплантология. – 2021. – Т. 13. – № 1. – С. 49-62.
8. Пономарев, И. Н.; Макаров, М. С.; Сторожева, М. В.; Миронов, А. С.; Свищев, А. В.; Боровкова, Н. В. Роль тканевых трансплантатов в практике НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского //Сборник: Роль больниц скорой помощи и научно-исследовательских институтов в снижении предотвратимой смертности среди населения. Материалы 4го съезда врачей неотложной медицины с международным участием, 2018. – С. 267-268.
9. Приказ Минздрава РФ № 336 от 07.09.2000.
10. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Минздравсоцразвития России) № 175н от 16 апреля 2008 г. «О внесении изменений в приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 14

- сентября 2001 г. № 364 "Об утверждении Порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов"».
11. Сачков, А. В.; Боровкова, Н. В.; Жиркова, Е. А.; Миронов, А. С.; Борисов, В. С.; Спиридонова, Т. Г.; Пономарев, И. Н.; Свищев, А. В. Использование трупной кожи в лечении ран. Трансплантология. – 2018. – Т. 10. – № 4. С. 327-335.
  12. Савельев, В. И.; Булатов, А. А. Деминерализованная костная ткань в травматологии и ортопедии. Руководство для врачей. Травматология и ортопедия. Т. IV. – СПб.: Изд-во «Гиппократ», 2004. – С. 265-293.
  13. Свищев, А. В.; Годков, М. А.; Боровкова, Н. В.; Миронов, А. С.; Пономарев, И. Н.; Андреев, Ю. В. История развития системы менеджмента качества и ее применение в практике учреждений здравоохранения// Медицинский алфавит, 2019. – Т. 4.– № 35 (410). – С. 9-15.
  14. Хватов, В. Б.; Свищев, А. В.; Ваза, А. Ю.; Боровкова, Н. В.; Миронов, А. С.; Похитонов, Д. Ю.; Андреев, Ю. В. Способ изготовления лиофилизированного аллотрансплантата кости // Трансплантология. – 2016. – № 1. – С. 13-18.
  15. Хубутя, М. Ш.; Андреев, Ю. В.; Боровкова, Н. В.; Хватов, В. Б.; Миронов, А. С.; Жиркова, Е. А.; Пономарев, И. Н.; Волков, К. С.; Шугай, С. В.; Конюшко, О. И.; Макаров, М. С. Способ изготовления дермального матрикса // Патент на изобретение RU 2524619 C2, 27.07.2014. Заявка № 2013114451/15 от 02.04.2013.
  16. Хубутя, М. Ш.; Солонин, С. А.; Годков, М. А. Проблемы обеспечения инфекционной безопасности органного и тканевого донорства при лабораторной диагностике гемоконтактных вирусных инфекций // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. 18. – № 1. – С. 83-90.
  17. Шангина, О. Р.; Хасанов, Р. А. Организационная структура и технологическая схема тканевого банка «ALLOPLANT®». Технологии живых систем. 2015;12(4):66-67.
  18. Brunner, G. Applications of Supercritical Fluids. Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng. 2010. – № 1. – P. 321–342.
  19. Bui, D., Lovric, V., Oliver, R., Bertollo, N., Broe, D., Walsh, W.R. Meniscal allograft sterilisation: Effect on biomechanical and histological properties. Cell Tissue Bank. 2015. Vol 16 P 467-475
  20. FDA Guidance for Industry: Eligibility Determination for Donors of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/Ps), August 2007 (<http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>).

21. FDA Guidance for Industry. MedWatch Form FDA 3500A: Mandatory Reporting of Adverse Reactions Related to Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/PTs), November 2005 (<http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>)
22. FDA Manual of Standard Operating Procedures and Policies: Regulatory – Cellular, Tissue and Gene Therapies: Procedures for Handling Requests for Exemptions and Alternative Procedures for Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/PTs) Under 21 CFR Section 1271.155, SOPP 9151, June, 13, 2006 (<http://www.fda.gov/cber/regsopp/regsopp.htm>).
23. FDA Compliance Policy Guide Sec. 130.300, June 2, 2007 ([http://www.fda.gov/ora/compliance\\_ref/cpg/cpggenl/cpg130-300.html](http://www.fda.gov/ora/compliance_ref/cpg/cpggenl/cpg130-300.html)).
24. FDA General Principles of Software Validation; Final Guidance for Industry and FDA Staff, January 2002 (<http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>).
25. FDA Guidance for Industry: Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice, September 2004 (<http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>)
26. FDA Guidance for Industry and FDA Staff: Class II Special Controls Guidance Document: Human Dura Mater, December 2003 (<http://www.fda.gov/cdrh/guidance.html>).
27. FDA Guideline on General Principles of Process Validation, Sections VII and VIII, May 1987 (<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>).
28. FDA Quick Summary: Transmissible Spongiform Encephalitis Advisory Committee, July 17-18, 2003 (<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/cber03.html#TransmissibleSpongiform>).
29. FDA Guidance for Industry: Validation of Procedures for Processing of Human Tissue Intended for Transplantation, March 2002 (<http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>).
30. Hennessy R.S., Jana S., Tefft B.J., Helder M.R., Young M.D., Hennessy R.R., Stoyles N.J., Lerman A. Supercritical carbon dioxide-based sterilization of decellularized heart valves. JACC Basic Transl Sci. 2017. Vol. 2. № 1. P. 71-84.
31. ISO 14937:2009, n.d. Sterilization of health care products – General requirements for characterization of a sterilizing agent and the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices. International Organization for Standardization, 2009.
32. Komender J. Cell and tissue preservation and storage for transplantation. Present and future. Ann Transplant. 2004. Vol. 9. № 1. P. 88-90.

33. Lin M., Lee S., Zhen B., Scott J., Horne A., Solomon G. CBER's Experience With Adaptive Design Clinical Trials. *Ther Innov Regul Sci*. 2015. Vol. 50. №. 2. – P. 195–203.
34. Manyalich M., Navarro A., Koller J., Loty B., de Guerra A., Cornu O. European Quality System for Tissue Banking. *Transplant Proc*. 2009. Vol. 41. № 6. 2035–2043.
35. Phillips G.O. The emergence and pitfalls of international tissue banking. *Cell Tissue Bank*. 2018. Vol. 19, № 2. P. 1.
36. Santos-Rosales V., Magariños B., Starbird R., Suárez-González J., Fariña J., Alvarez-Lorenzo C., García-González C. Supercritical CO<sub>2</sub> technology for one-pot foaming and sterilization of polymeric scaffolds for bone regeneration. *Int J Pharm*. 2021. 605:120801 67-173
37. Scott J.A., Hsu H. Missing data issues at the FDA center for biologics evaluation and research. *J Biopharm Statist*. 2011. Vol. 21, № 2. P. 196–201.
38. Sun Y., Lovric V., Wang T., Oliver R.A, Walsh W.R. Effects of SCCO<sub>2</sub>, Gamma Irradiation, and Sodium Dodecyl Sulfate Treatments on the Initial Properties of Tendon Allografts. *Int J Mol Sci*. 2020. Vol. 21. № 5. P. 1565.
39. White A., Burns D., Christensen T.W. Effective terminal sterilization using supercritical carbon dioxide. *J Biotechnol*. 2006. №123. P. 504–515.