

KARELIA-AMMATTIKORKEAKOULU
Kone- ja tuotantotekniikan koulutus

Karelia-amk
Arto Heinonen

RUISKUVALETTAVAT SOLUNKASVATUSALUSTOISSA KÄYTET-
TÄVÄT MUOVIMATERIAALIT

Opinnäytetyö
Huhtikuu 2018



OPINNÄYTETYÖ
Huhtikuu 2018
Kone- ja tuotantotekniikan koulutus

Karjalankatu 3
80200 JOENSUU
p. (013) 260 6800

Tekijä
Arto Heinonen

Nimeke
Ruiskuvalettavat solunkasvatusalustoissa käytettävät muovimateriaalit

Tiivistelmä

Opinnäytetyön tavoitteen oli selvittää, mitä termoplastisia muoveja käytetään solunkasvatusalustoina, niiden erityispiirteitä sekä materiaalin valintaa ja saatavuutta. Työssä otettiin huomioon myös kasvualustojen valmistusta sekä niitä koskevia säädöksiä.

Työssä käytiin läpi eurooppalaisia ja yhdysvaltalaisia viranomaismääräyksiä, jotka ohjaavat muovimateriaalin valintaa lääkinnällisiin laitteisiin. EU:ssa on tullut voimaan uusi lääkinnällisten laitteiden määräykset 2017/745 ja 2017/746 sekä terveydenhuollon laatustandardi 13485:2016, jotka muuttavat lääkinnällisten laitteiden koko valmistusketjua, suunnittelusta myyntiin asti.

Sopivia muovimateriaaleja solunkasvatusalustoihin löytyy markkinoilta paljon. Materiaalin valinnassa, hankinnassa ja alustojen valmistuksessa tulee noudattaa uusia viranomaismääräyksiä. Uudet määräykset selkeyttävät lääkinnällisten laitteiden markkinoille saattamista ja potilasturvallisuuden paranemista.

Kieli
Suomi

Sivuja 50

Asiasanat

muovimateriaalit, bioyhteensopiva, EP, USP, FDA, ISO, kasvatusalusta, substraatti, kantasolu, puhdistila, GMP, jakelija, valmistaja



THESIS
April 2018
**Degree Programme in Mechanical and
Production Engineering**
Karjalankatu 3
80200 JOENSUU
FINLAND
+ 358 13 260 68 00

Author
Arto Heinonen

Title
The Use of Thermoplastic Injection Molding Materials for Cell Culture Dishes

Abstract

The target of the thesis was to find out which thermoplastics are used for stem cell cultivation dishes and to study their specific characteristics as well as the availability and choice of materials. The thesis also considered the regulations on the manufacturing of dishes.

The work covered European and American official regulations governing the selection of plastic material for medical devices. New Regulations on Medical Devices 2017/745, 2017/746 and Health Quality Standard 13485: 2016 entered into force in the EU. They change the entire medical device manufacturing chain from design to sale.

Suitable plastic materials for cell culture dishes can be found on the market in abundance. New authority regulations must be followed in the selection, procurement, and manufacturing of stem cell dishes. The new regulations clarify the releasing of medical devices onto the market and improve patient safety.

Language
Finnish

Pages 50

Keywords

plastic, biocompatible, medical approvals, cell dishes, substrate, stem cell, clean room, GMP manufacturing

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

Lyhenteet

1	Johdanto	7
1.1	Muovit terveydenhuollon sovellusten materiaalina	8
1.2	Opinnäytetyö ja sen tavoitteet	9
2	Lääkintälaitteiden muovimateriaaleja koskevat määräykset	10
2.1	Lääkinnälliset laitteet EY 2017/745	11
2.2	Bioyhteensopivuus	12
2.3	ISO 10993	13
2.4	Euroopan farmakopea (EP).....	16
2.5	FDA.....	17
2.6	EU:n muovisten elintarvikepakkausten määräyksiä	19
2.7	USP.....	20
3	Soluviljely.....	22
3.1	Solujen kasvatusalustat	23
3.2	CE-merkki.....	24
3.3	Substraatit.....	25
4	Lääkinnällisten laitteiden valmistus	26
4.1	GMP	26
4.2	Valmistus puhtastilassa	27
4.3	ISO 13485:2016 Laatu.....	30
5	Muovimateriaalien saatavuus	31
5.1	REACH- ja CLP -asetus	31
6	Kasvualustoissa käytettävät muovimateriaalit.....	32
6.1	Alustojen kemiallinen kestävyys	34
6.2	Sterilointi.....	34
6.2.1	Sterilointimenetelmät	35
6.3	Muovimateriaalit.....	36
6.3.1	Polystyreeni.....	36
6.3.2	S/B	37
6.3.3	ABS.....	37
6.3.4	PMMA	38
6.3.5	SMMA	39
6.3.6	Polyesterit	39
6.3.7	PC	40
6.3.8	COC	42
6.3.9	PSU, PES ja PPSU	42
6.3.10	PEI	43
6.3.11	PMP	44
6.3.12	PP	44
6.3.13	PE	45
7	Pohdinta	46
	Lähteet	48

Lyhenteet

ABS	Akryylinitriilibutadieenistyreeni.
Barrier	Muovien ominaisuus joka tarkoittaa hapen- ja kaasujen läpäisevyyttä.
CE -merkki	Conformité Européenne, valmistajan vakuutus siitä, että tuote täyttää EU:n direktiivien vaatimukset.
COC	Syklinen polyolefiinimuovimateriaali.
CLP -asetus	EU:n asetus kemikaalien luokituksesta, merkinnöistä ja pakkaamisesta.
DQ	Design Qualification, laitteiden suunnitelmien tarkastus.
EDQM	The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare.
EU	Euroopan unioni.
EP	European Pharmacopoeia, Euroopan farmakopea.
FDA	Food and Drug Administration, Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto.
GMP	Good Manufacturing Practice, hyvä tuotantotapa.
In vitro	Tutkimustekniikka, jossa koe suoritetaan koeputkessa, lasimaljassa tai yleisesti elävän organismin tai solun ulkopuolella.
In vivo	Tutkimustekniikka, jossa koe tehdään elävässä organismissa.
IVD	In vitro diagnostic medical device, laboratoriotutkimus ja niihin tarkoitetut välineistöt.
IQ	Installion Qualification, asennus – ja vastaanottotarkastus.
MD	Medical device, lääkinnällinen laite.
Nukleointi	Muovimateriaalin ydintäjäaine joka edistää kiteytymistä. Organoleptinen ominaisuus Muovien haju- ja makuominaisuus.
OQ	Operational Qualification, toiminnan testaus.
PQ	Performance Qualification, prosessin suorituskyky.
PE	Polyeteeni.
PEI	Polyeetteri-imidi.
PES	Polyeeterisulfoni.

PET	Polyetyleenitereftelaatti.
PMMA	Polymeetylimetakrylaatti.
PS	Polystyreeni.
PSU	Polysulfoni.
PPSU	Polyfenyleenisulfidi.
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals , Euroopan unionin asetusta kemikaalirekisteröinnistä, kemikaalien arvioinnista, lupamenettelyistä sekä rajoituksista.
SMMA	Styreeniakryylikopolymeeri.
USP	USA:n farmakopea.
QC	Operational Qualification, laadunvalvonta.
QP	Qualified person, pätevätyt laadunvalvonnasta vastaava henkilö.
QSR	Quality Systems Regulation, FDA:n mukainen GMP.

1 Johdanto

Maailman väestö kasvaa ja ikääntyy kiihtyvällä vauhdilla. Yleisen elintason nousun sekä lääketieteen ja terveydenhuollon kehityksen myötä myös keskimääräinen eliniän odote pitenee koko ajan.

Tämä tuo valtavasti haasteita terveydenhuollolle ja lääketieteelle. Tarvitsemme globaalisti perustarpeiden kuten ruuan, veden ja terveellisten elintapojen lisäksi aiempaa tehokkaampia hoitomenetelmiä, parempia ja edullisempia laitteita ja uusia innovaatiota pitämään ikääntyvästä väestöstä huolta.

Muovimateriaaleja tarvitaan yhä enemmän erilaisissa lääketeollisuuden ja terveydenhuollon käyttökohteissa. Muovien vaihtelevat ja ainutlaatuiset ominaisuudet mahdollistavat tuoteinnovaatioita, joita muilla materiaaleilla ei voida saavuttaa. [1]

Ihmisten varaosia voidaan valmistaa ja eläinkokeita tehdä kantasolujen avulla in vitro -kasvatusalustoilla laboratoriossa. Kasvatusalustoilla on suuri merkitys solujen kasvuun. Soluja kasvatetaan yleensä joko muovisilla maljoilla tai kasvatuspulloissa kasvatusliuoksessa. Soluille on tärkeää myös oikeanlainen happitaso, kosteus ja lämpötila. Muovimateriaali ei saa vaikuttaa solujen kasvuun. Muovimateriaalista ei saa siirtyä kemikaaleja kasvatettaviin soluihin. Väärä alustamateriaali ja sen elastisuus voivat johtaa solujen kantasoluominaisuuden katoamiseen ja aiheuttaa solujen erilaistumisen. Oikeanlaisessa kasvatusalustassa kasvatetut solut jakaantuvat hyvin ja istutettuina elimistöön erilaistuivat tarvittaviksi soluiksi.

1.1 Muovit terveydenhuollon sovellusten materiaalina

Terveydenhuollon muoveja käytetään muun muassa seuraaviin tarkoituksiin:

- vammojen hoito
- ortopedia
- leikkaus
- diagnostiikka
- terapia/hoito
- hammaslääketiede.

[2]

Tärkeintä muovimateriaalien valinnassa on potilasturvallisuus, joka ei saa vaarantua missään tilanteessa. Mitä paremmin määritellään käyttösovellusten muovimateriaalille asetetut vaatimukset, sen tarkempaa on materiaalin valinta sovellukseen. Materiaalin valinta vaatii myös viranomais määräysten tuntemista eri markkina-alueilla, jossa lääkinnällistä laitetta käytetään. Kuviossa 1 on kerätty tärkeimpiä lääkintälaitteiden suunnittelussa ja valmistuksessa huomioon otettavia seikkoja.



Kuvio 1. Lääkinnällisen laitteen suunnittelussa ja valmistuksessa huomioon otettavia asioita.

1.2 Opinnäytetyö ja sen tavoitteet

Tämä opinnäytetyö on kirjallisuustutkimus kantasolujen in vitro -kasvatusalustoihin sopivista ja käytettävistä muovimateriaaleista. Mitä tarkoittaa bioyhteensopiva muovimateriaali ja mistä niitä saadaan.

Muovimateriaaleja valmistavat yritykset palvelevat terveydenhuollon tarpeita suunnittelemalla siihen sopivia muovimateriaaleja, jotka täyttävät terveydenhuollon ja lääketieteelliset vaatimukset. Alalla on paljon erilaisia hyväksyntöjä muovimateriaaleille johtuen muovien monikäyttöisyyden takia. Tässä on työssä tuotu myös esille tärkeimpiä hyväksyntöjä, joita materiaalit tulisivat täyttää, jotta niitä voidaan käyttää solunkasvatusalustoissa.

Lisäksi selvitettiin, mitä asioita on huomioitava, kun ryhdytään valmistamaan lääketieteellisiä laitteita, joihin kasvualustatkin luetaan uuden asetuksen (EU) 2017/745 mukaisesti. Uusi asetus on tulossa voimaan viimeistään 2022.

2 Lääkintälaitteiden muovimateriaaleja koskevat määräykset

Terveydenhuollon sovelluksiin käytettävien materiaalien valmistajilta ja toimittajilta odotetaan korkeaa palvelutasoa ja jatkuvuutta. Lopputuotteelle haetaan lähes aina hyväksyntöjä ja luvataan pitkä elinikä markkinoilla, joten materiaalin tulee täyttää samat vaatimukset. Muovimateriaalin valintaan tulee kiinnittää erityistä huomiota. Valinnan aikana tulee tehdä yhteistyötä materiaalin toimittajan ja valmistajan edustajien kanssa. Materiaalin valintaa ennen on hyvä tehdä riskianalyysi, jossa arvioidaan materiaalin sopivuutta käyttökohteeseen. Riskianalyysissä kartoitetaan käyttökohde ja olosuhteet niin hyvin, että valmistajan voi antaa lausunnon ja hyväksynnän siitä, että materiaalia voidaan käyttää käyttökohteeseen. Valinnassa kannattaa selvittää ja ottaa huomioon seuraavia asioita:

- materiaalin saatavuustakuu
- materiaalin koostumuksen muuttumattomuus
- GMP:n mukainen valmistus
- materiaalihyväksynät
- materiaalin koostumuksesta ilmoittaminen
- tekninen tuki materiaalin valmistajalta tai jakelijalta
- varastoitavuus.

Terveydenhuollon muovimateriaalit voidaan jakaa kahteen pääryhmään:

- terveydenhuollon sovellukset kuten: pakkaukset, laboratoriolaitteet, ortopediset apuvälineet
- lääketieteelliset sovellukset kuten: infuusiosovellukset, ruiskut, katetrit, implantit.

[3]

2.1 Lääkinnälliset laitteet

Medical Device (MD) - ja In Vitro Diagnostic Devices (IVD) -direktiivit julkaistiin toukokuussa 2017. Terveydenhuollon laitteiden laatustandardit päivitettiin versioon ISO 13485:2016 ja laatustandardi versioon ISO 9001:2015. Pääpaino muutoksissa on varmistaa markkinoille tulevien tuotteiden turvallisuus ja tehokas käyttö. Tähän pyritään asettamalla entistä tiukemmat vaatimukset mm. kliinisen toimivuuden todentamiselle ja seurannalle, tehokkaamman jäljitettävyyden varmistamiselle koko toimitusketjussa (ml. jakelijat) sekä määrittelemällä tarkemmin tuotteiden riskiluokitus ja tämän mukainen dokumentointi. [4]

Lääketieteellisiä laitteita koskevat ohjeet ja säännökset rekisteröintiä ja myyntilupaa varten (ns. regulatoriset säännökset) on aina katsottava halutun markkina-alueen lupaa myöntävän viranomaisen ohjeistoista. Joskus annettavat kirjalliset ohjeet ovat käyttäjän kannalta hyvin väljät ja epämääräiset. Toisaalta ymmärrettään bioyhteensopivien materiaali-alueen monimuotoisuus ja halutaan antaa käyttäjälle vapauksia soveltaa asiantuntemusta ja mahdollisuus asiantuntemuksen osoittamiseen juuri oman materiaalinsa kanssa. Toisaalta tällöin korostuu myös materiaalin kehittäjän vastuu turvallisuudesta ja sen osoittaminen omasta materiaalistaan. Pääasialliset markkina-alueet ovat Eurooppa, Amerikan Yhdysvallat ja Japani, jotka pyrkivät harmonisoimaan säännöstöjään niin, että kaikille ihmisille yhteinen turvallisuus voidaan todentaa samoilla edellytyksillä. Markkina-alueiden viranomaiskäytännöissä on kuitenkin vielä pieniä eroja, joskin biologisen turvallisuuden testaamisen kannalta ne ovat hyvin pieniä. Muualla noudatetaan soveltaen jonkun em. alueen käytäntöä. [5]

EU on määritellyt tarkasti lääkinnälliset laitteet uusissa asetuksissa (EU) 2017/745 MD ja 2017/746 IVD. Lääkinnällisellä laitteella tarkoitetaan instrumenttia, laitteistoa, välinettä, ohjelmistoa, implanttia, reagenssia, materiaalia tai muuta tarviketta, jonka valmistaja on tarkoittanut käytettäväksi ihmisillä, joko yksinään tai yhdistelminä, seuraaviin lääketieteellisiin tarkoituksiin:

- Sairauden diagnosointi, ehkäisy, ennakointi, ennusteen laatiminen, tarkkailu, hoito tai lievitys.
- Vamman tai toimintarajoitteen diagnosointi, tarkkailu, hoito, lievitys tai kompensointi.
- Anatomian taikka fysiologisen tai patologisen toiminnon tai tilan tutkiminen, korvaaminen tai muuntaminen.
- Tietojen saaminen ihmiskehon ulkopuolella (in vitro) suoritettavien tutkimusten avulla ihmiskehosta otetuista näytteistä, mukaan lukien elinten, veren ja kudosten luovutukset.

Suomessa terveydenhuollon laitteita ja tarvikkeita valvoo Valvira, joka myös antaa neuvoja niiden lainsäädännöllisissä asioissa.

2.2 Bioyhteensopivuus

Bioyhteensopiva materiaali on jatkuvassa vuorovaikutuksessa elimistön solujen ja kudosten kanssa, eikä materiaali saa aiheuttaa elimistön hylkimistä. Bioyhteensopivuutta säädellään mm. USP - ja ISO -standardeilla, joista merkittävin on ISO 10993-1, joka määrittelee testausmenetelmät bioyhteensopivuudelle. Standardeilla on keskeinen vaikutus lääkinnällisten laitteiden tuotekehityksessä. Mikäli bioyhteensopivuutta ei ole huomioitu jo tuotteen suunnittelu- ja protovaiheessa, saattaa tuotteen markkinoille saaminen hidastua ja tuotekehitysvaiheen kustannukset nousta. [6]

Bioyhteensopivuudella tarkoitetaan elävän järjestelmän tai kudoksen vuorovaikutusta lääketieteellisen laitteen tai materiaalien kanssa. Bioyhteensopivat materiaalit eivät saa aiheuttaa myrkyllistä tai immunologista vastetta, kun ne altistuvat

keholle tai ruumiin nesteille. Riskianalyysit suoritetaan (in vivo ja in vitro) bioyh- teensopivilla materiaaleille, lääkinnällisille laitteille ja vastaavilla tuotteille.

Bioyh teensopivien materiaalien ja niistä valmistettavien tuotteiden kuten implant- tien kehittämiseen sekä niiden elimistövaikutuksien ja käytöstä aiheutuvien vau- rioiden tutkimiseen vaaditaan monien eri tieteen ja tekniikan alojen yhteistyötä. Asiantuntijoiden osaamista tarvitaan esimerkiksi kemian, fysiikan, materiaalitie- teen, anatomian, fysiologian, histopatologian, solu- ja molekyylibiologian, kokeel- lisen kirurgian sekä kliinisten tieteiden aloilta. Yksi tärkeimmistä tavoitteista bio- materiaalien ominaisuuksia kehitettäessä on niiden kudosityhteensopivuuden eli biokompatibiliteetin parantaminen. Biomateriaalista riippuen tällä tarkoitetaan materiaalien pintaominaisuuksien kehittämistä, jotta biomateriaalista valmistettu tuote voi suoraan integroitua sitä ympäröivään kudokseen ilman erillistä kudok- kerrosta niiden välissä. Biokompatibiliteettia voidaan parantaa myös kehittämällä tuotteista bioaktiivisia lisäämällä niihin esimerkiksi keraameja, kasvutekijöitä tai kemoterapeuttisia aineita, jotka aktivoivat kudoksen kasvua ja tehostavat para- nemista. [7]

Vaikka lääkinnällinen laite koostuu eri bioyh teensopivista materiaaleista, itse lai- tekin vaatii bioyh teensopivuustestauksen. Esimerkiksi laastari on valmistettu vä- hintään kolmesta materiaalista: liimasta, muovista ja sideharsoista. Vaikka nämä materiaalit olisivat bioyh teensopivia, itse laastarin testaus on välttämätöntä. Bio- yh teensopivuustestaukset suoritetaan aina lopputuotteelle. Mikrobit tai epäpuh- taudet voivat vaikuttaa testituloksiin, joten koekappaleet puhdistetaan tai steriloi- daan samalla menetelmällä kuin on suunniteltu käytössä. Sterilointi eroaa kuitenkin bioyh teensopivuudesta. Steriiliys tarkoittaa sitä, että materiaalin pin- nalta on poistettu elävät organismit (kuten bakteerit). [8]

2.3 ISO 10993

ISO on riippumaton kansainvälinen järjestö, johon kuuluu 162 kansallista stan- dardointi- elintä. Jäsenmaidensa kautta se kokoaa yhteen asiantuntijoita jaka- maan tietoa ja kehittämään vapaaehtoisia, konsensuspohjaisia, markkinoiden

kannalta olennaisia kansainvälisiä standardeja, jotka tukevat innovointia ja tarjoavat ratkaisuja globaaleihin haasteisiin. [9]

Potilaan kehon kanssa kosketukseen joutuvan lääketieteellisen laitteen tai materiaalin odotetaan suorittavan suunnitellun toiminnon ilman, että potilaalle aiheutuu haittavaikutuksia. Mahdolliset haittavaikutukset voivat vaihdella lyhytaikaisista (akuuteista) pitkäaikaisiin (kroonisiin) haittavaikutuksiin kehossa kuten mutageenisiin vaikutuksiin. Tästä syystä lääkinnällisiin laitteisiin sovelletaan tyyppillisesti biologista arviointia ja bioyhteensopivuustestiä laitteen ja kudoksen, solujen tai potilaan kehon nesteiden välisten vuorovaikutusten arvioimiseksi. Laitteen biologisen yhteensopivuuden arvioinnin ensisijainen tarkoitus on suojata potilasta mahdollisilta biologisilta riskeiltä. [10]

ISO 10993 on keskeinen standardi, jota käytetään lääketieteellisen laitteen bioyhteensopivuuden testauksessa. ISO 10993 -standardi on laajempi kuin USP VI. Standardi ISO 10993 kattaa ihokosketuksen lisäksi biologiset myrkyllisyysriskit soluille, herkistymisen ja ärsytyksen. Taulukossa 1 on yhteenveto bioyhteensopivuuden ISO 10993:n testauksesta. Taulukko on kehitetty bioyhteensopivuuden arvioinnin ohjeeksi, on olennaista, että jokaista laitetta arvioidaan omien ominaisuuksiensa perusteella.

ISO 10993 koostuu 20 osasta, joilla arvioidaan lääkinnällisten laitteiden bioyh-teensopivuutta:

- Osa 1: Arviointi ja testaus riskienhallintaprosessissa.
- Osa 2: Eläinten hyvinvointia koskevat vaatimukset.
- Osa 3: Genotoksisuus, karsinogeenisuus ja lisääntymistoksisuus.
- Osa 4: Testejä verenvuotojen suhteen.
- Osa 5: Testit in vitro myrkyllisyydelle.
- Osa 6: Paikallisten vaikutusten testaukset implantoinnin jälkeen.
- Osa 7: Etyleenioksidien jäännös EtO -steriloinnin jälkeen.
- Osa 9: Puitteet mahdollisten hajoamistuotteiden tunnistamiseksi ja määrittämiseksi.
- Osa 10: Testit ärsytystä ja ihon herkistymistä varten.
- Osa 11: Testit systeemin toksisuudelle.
- Osa 12: Näytteen valmistus ja vertailumateriaalit.
- Osa 13: Polymeeristen materiaalien hajoamistuotteiden identifiointi ja kvantifiointi.
- Osa 14: Keraamisten hajoamistuotteiden tunnistaminen ja kvantifiointi
- Osa 15: Metallien ja seosten hajoamistuotteiden tunnistaminen ja kvantifiointi.
- Osa 16: Toksikineettinen tutkimus hajoamistuotteille ja huuhteluvälille.
- Osa 17: Liukenevien aineiden sallittujen raja-arvojen määrittäminen.
- Osa 18: Materiaalien kemiallinen karakterisointi.
- Osa 19: Materiaalien fysikaaliskemialliset karakterisoinnit.
- Osa 20: Periaatteet ja menetelmät lääkinnällisten laitteiden immunotoksisuuskokeille.

ISO 10993 -testit tehdään aina lopputuotteelle. Muovimateriaalin bioyh-teensopi-vuudesta pitää aina keskustella muovimateriaalien toimittajan ja valmistajan kanssa, mikäli materiaalista valmistetaan implantteja. [11]

2.4 Euroopan farmakopea (EP)

Euroopan farmakopea on Euroopan neuvoston (EN) julkaisu, jota toimittaa Stras-bourgissa sijaitseva lääkkeiden laatuasioista vastaava yksikkö Euroapean Direc-torate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Farmakopea sisältävät sitovat laatuvaatimukset lääkeaineille, apuaineille, pakkausmateriaaleille ja lää-kevalmisteille. Farmakopeaa tarvitsevat toiminnassaan lääketeollisuus, lääketuk-kukaupat, apteekit ja lääkevalvontaviranomaiset. Lääkealan turvallisuus- ja kehittä-miskeskus Fimea toimii Suomessa kansallisena farmakopeaviranomaisena. [12]

Toisin kuin muovisille lääkintälaitteille muoveille ei ole omaa CE -merkkiä. Euroopan farmakopeassa (EP) on määritelty muovimateriaalien ja niiden sisältävien lisä- ja apuaineille raja-arvoja ja käyttörajoituksia mm. seuraavissa sovelluksissa:

- muoviset säiliöt infuusioliuoksia varten
- steriilit säiliöt verelle ja säiliön komponenteille
- steriloidut pehmitetyt PVC-säiliöt verelle
- verensiirtoon sopivat tarvikkeet
- steriilit kertakäyttöiset muoviset ruiskut
- kumitulpat.

Muovimateriaali voidaan testata ja selvittää, mitä kemikaaleja siitä voi siirtyä pakattavaan materiaaliin tai lääkkeeseen. Tutkimuksen perusteella voidaan selvittää, soveltuuko materiaali lääkepakkausmateriaaliksi, laboratoriolaitteiden materiaaliksi tai käytettäväksi kirurgisessa tarkoituksessa käytettävien esineiden materiaaliksi. Kemikaalien siirtymälle eli migraatiolle EP on asettanut myös raja-arvoja. Muovimateriaalin valmistajat voivat testauttaa omat muovimateriaalit EP:n muovimateriaalille ja sovellusta koskevien määräysten mukaisesti. Bioyhteensopivuutta EP:n muoveilla kehitetyillä testeillä ei voida todeta.

2.5 FDA

Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto (FDA) säätelee Yhdysvaltain lääketieteellisten laitteiden markkinoita. Virasto rekisteröi, antaa hyväksyntöjä instrumenteille tai tuotteille, joita käytetään sairauksien diagnosoinnissa tai hoidossa. FDA asettaa vaatimuksia, joita FDA:n valtuuttamat laboratoriot testaavat. Lopullisen hyväksynnän antaa FDA, jos tuote tai laite täyttää sen sille asettamat vaatimukset. Lääkinnälliset laitteet esimerkiksi kuumemittari, keinosydän tai raskaustesti kuuluvat hyväksymisen piiriin. Lääkinnällisten laitteiden jako FDA:n mukaan on seuraavanlainen:

- Luokan I laite: Pieni potentiaalinen riski, yksinkertainen muotoilu, esim. siiteet.
- Luokka II laite: Potilaan potentiaalinen riski suurempi, muotoilu on monimutkaisempi kuin luokan I laite, esim. kirurgiset instrumentit, pyörätuolit.
- Luokan III laite: Potentiaalinen suuri riski potilaalle, kuten laitteet, jotka tukevat ja tai ylläpitävät elämää. esim. Implantoitavat laitteet, kuten sydämentahdistimet, stentit, polvi- tai lonkkaimplantit.

USA:ssa solunkasvatusalustat rekisteröidään FDA21 CFR 884.6160 luokka II:n mukaisesti.

FDA määrittelee myös elintarvikkeiden kanssa kosketuksissa olevien muovimateriaalien vaatimuksia. Muovimateriaaleille on olemassa oma 21 CFR -säädos, josta löytyvät muovien sisältämien ja siirtymien kemikaalien raja-arvot. Muovin valmistajat voivat antaa todistuksen siitä, että muovimateriaali täyttää FDA:n vaatimukset ja sopii elintarvikekäyttöön. Valvontavastuu säilyy kuitenkin muovituotteiden valmistajalla. Bioyhteensopivuudesta FDA on asettanut säännösten, joka perustuu osin standardiin ISO 10993, jota on täydennetty.

Jotta lääkinnällisiä laitteita tai in vitro -diagnostiikkaan valmistettuja tuotteita voidaan myydä Yhdysvalloissa, valmistajilla on oltava 21 CFR -säädöksen osan 820 mukainen laadunhallintajärjestelmä (QSR). Vaikka yrityksellä on voimassa oleva ISO 13485 mukainen laatu järjestelmä, on yrityksen lisäksi implementoitava QSR:n mukainen laadunhallintajärjestelmä. Tämä säädos pitää sisällään hyvin paljon samankaltaisia asioita kuin ISO 13485 -standardi. Selkeänä erona on kuitenkin se, että ISO 13485 on standardi ja US FDA QSR 21 osa 820 on Yhdysvaltojen FDA:n säätämä laki. Kuten ISO -standardinkin, on tämänkin tarkoitus olla säädos, jota sovelletaan yritysten laatu järjestelmiin, jotka toimivat lääkinnällisten tuotteiden toimialoilla. Jos kansainvälinen yritys haluaa kaupata kyseisten toimialojen tuotteita Yhdysvalloissa, tulee sen täyttää FDA:n asettamat vaatimukset ja tuotteella on oltava FDA:n myöntämä myyntilupa. [13]

Bioyhteensopivuudesta FDA on asettanut vaatimuksen, joka perustuu ISO 10993 -standardiin.

2.6 EU:n muovisten elintarvikepakkausten määräyksiä

Euroopassa elintarvikkeiden kanssa kontaktissa olevien materiaalien vaatimuksia valvoo Euroopan neuvosto. Asetuksen 1935/2004 perustana on periaate, että kaikkien elintarvikkeiden kanssa suoraan tai välillisesti kosketukseen joutuvien materiaalien tai tarvikkeiden on oltava riittävän inerttejä, jottei aineita pääse siirtymään elintarvikkeeseen sellaisia määriä, jotka voivat vaarantaa ihmisten terveyden, aiheuttaa sopimattomia muutoksia elintarvikkeen koostumuksessa tai heikentää sen aistinvaraisia ominaisuuksia. [14]

Komission asetukseen (EU) no 10/2011 yhdistettiin hieman muokaten ja täsmentäen aiemmin komission direktiivillä 2002/72/EY ja sen muutoksilla annetut elintarvikkeiden kanssa kosketukseen joutuvia muovisia materiaaleja ja tarvikkeita koskevat vaatimukset. Kokonaisuudessaan asetus on ollut voimassa 2016 lähtien. Tuotteiden valmistajilla ja maahantuojilla on oltava GMP:n mukainen omavalvontajärjestelmä tuotteiden vaatimustenmukaisuuden hallitsemiseksi. Toimijan on pystyttävä omavalvontadokumentaation perusteella osoittamaan markkinoimiensa tuotteiden vaatimustenmukaisuus. [15]

(EY) no 10/2011 mukaan kontaktimateriaaleista määritetään siirtyvien eli migraantuvien kemikaalien määrää erilaisissa elintarvikekontaktitilanteissa pakatta-vaan tuotteeseen. Pakkausmateriaalista otettuja näytteitä liuotetaan laboratoriossa erilaisissa liuoksissa (simulantti) eri lämpötiloissa. Liuenneiden kemikaalien määrä tutkitaan simulantista ja sen perusteella varmistutaan, täyttääkö kontaktimateriaali EU:n asettamien migraation raja-arvot.

Aineen siirtymään elintarvikkeeseen vaikuttavat monet tekijät, kuten siirtyvän aineen tiheys, elintarvikkeen säilytyslämpötila, PH -arvo ja aika. Myös pakkauksen koko ja sen sisältämän elintarvikkeen koko vaikuttavat siirtymän suuruuteen. Esimerkiksi pienemmässä pakkauksessa on suurempi siirtymäpinta-ala suhteessa pakkauksen tilavuuteen, jolloin siirtymän suuruus kasvaa. Aineen siirtymän suuruuden yksi osatekijä voi olla polymeerin rakenteen hajoaminen, joka mahdollistaa jonkin haitallisen kemikaalin siirtymisen elintarvikkeeseen. [16]

Vaikka muovimateriaali täyttää EU:n kontaktimateriaalille asetetut määräykset, on varmistettava, että kontaktimateriaalin soveltuvuus jokaiseen käyttösovellukseen tutkitaan erikseen.

2.7 USP

Yhdysvaltojen farmakopea (USP) on itsenäinen järjestö, joka on tehnyt standardeja lääkkeiden laadun ja terveydenhuollon teknologioiden varmistamiseksi. USP:n muovimateriaaleille suunnitelluilla testeillä testataan muovimateriaalien biologista reaktiivisuutta. Testit ovat kehitetty alun perin lääkeainepakkausten testaamista varten ja näiltä osin ne ovat samanlaisia kuin Euroopan farmakopean testit. Testit voidaan suorittaa muovimateriaalin lisäksi myös pakkauksille. USP:n testaus ei korvaa ISO bioyhteensopivuustestausta. USP -luokan testausta käytetään yleisimmin osoittamaan muovimateriaalin sopivuutta lääkinnällisten laitteiden valmistukseen. Biologista reaktiivisuutta tutkitaan in vitro - ja in vivo -tutkimuksin.

USP in vitro -testaus, joka suoritetaan USP:n biologisten reaktiivisuustestien mukaisesti, in vitro <87> -testillä. Testi koostuu kolmesta in vitro -testityypistä: MEM-eluutiot, suora kontakti tai agardiffuusio. Soluviljelymäärityksiä käytetään arvioimaan materiaalin tai uutteen biologista yhteensopivuutta nisäkässolujen in vitro -reaktion kautta altistuksen jälkeen. Testin läpäisevistä muoveista tai elastomeereistä voidaan valmistaa astioita tai säiliöitä, joissa säilytetään lääkkeitä tai nesteitä parenteraaliseen annosteluun (esim. nesteytys pussit, laskimon sisäiset letkut). Muovimateriaaleista voidaan myös valmistaa esim. hammasproteeseja, piilolinsejä, katetreja, joita voidaan käyttää implanteina (esim. lääkinnälliset laitteet: korvikkeet tai keuhkoputkien implantit). USP <87> -testeillä voidaan seuloa sopivia materiaaleja elävässä organismissa tehtävään in vivo -kokeeseen. [17]

USP:n <88> -testeillä voidaan arvioida muovimateriaalien biologista reaktiivisuutta in vivo. USP <88> -testiin kuulu eläinkokeita, joilla testataan bioyhteensopivuutta mutta testi ei korvaa ISO 10993 bioyhteensopivuutta. Valmistajat usein käyttävät muovimateriaalien luokittelussa USP:n testejä, koska se on tarkoitettu muovimateriaaleille. Testissä on kuusi luokkaa, joista VI on kaikkein vaativin.

Muovimateriaalien valmistajat pyrkivät saavuttamaan VI luokan, koska testin läpäisevä muovimateriaalit sopivat käytettäväksi lääketieteellisissä laitteissa, joilta vaaditaan bioyhteensopivuustestauksia standardin ISO 10993 mukaisesti. Muovien luokituksessa on kolme in vivo -tutkimusta. Systemiset injektiotestit ja intrakutaanitestit on suunniteltu määrittämään systemiset ja paikalliset biologiset vasteet muoveille ja muille polymeereille otoksesta valmistettujen yksittäisten uutteen kerta-annoksen injektiona. Kolmas testi, implanttitesti, on suunniteltu arvioimaan elävän kudoksen reaktiota koemateriaaliin. Kuuden erilaisen luokan testausta tehdään kaikkien näiden kolmen testin ja erilaisten uutteen erilaisilla yhdistelmillä. Taulukossa 2 on USP:n biologisen <88> -testauksen yhteenveto.

Taulukko 2. USP:n testauksen yhteenveto.

Plastic Classes ^a						Tests To Be Conducted			
I	II	III	IV	V	VI	Test Material	Animal	Dose	Procedure ^b
x	x	x	x	x	x	Extract of Sample in Sodium Chloride Injection	Mouse	50 mL/kg	A (iv)
x	x	x	x	x	x	Extract of Sample in 1 in 20 Solution of Alcohol in Sodium Chloride Injection	Rabbit	0.2 mL/animal at each of 10 sites	B
	x	x	x	x	x	Extract of Sample in Polyethylene Glycol 400	Mouse	10 g/kg	A (ip)
		x	x	x	x	Extract of Sample in Vegetable Oil	Rabbit	0.2 mL/animal at each of 10 sites	B
			x	x	x	Implant strips of Sample	Rabbit	4 strips/animal	C

^a Tests required for each class are indicated by "x" in appropriate columns.

^b Legend: A (ip)—Systemic Injection Test (intraperitoneal); A (iv)—Systemic Injection Test (intravenous); B—Intracutaneous Test (intracutaneous); C—Implantation Test (intramuscular implantation).

Akuutti systeeminen myrkyllisyys (systemic injection test) –testissä mitataan myrkyllisyyttä ja ärsytystä, kun näyte annetaan suun kautta, levitetään iholle tai hengitetään. Intrakutaanitesti (intracutaneous) eli ihon sisäisessä testissä mitataan myrkyllisyyttä ja paikallista ärsytystä, kun näyte on kosketuksissa elävien hermokudosten kanssa (erityisesti kudokseen, johon lääkinnällinen laite on tarkoitettu kosketuksiin). Implanttitesti (intramuscular implantation) mittaa yhdisteen intramuskulaarisen implantaation myrkyllisyyttä, infektiota ja ärsytystä koe-eläimeen useiden päivien ajan sisäisesti. [18]

USP luokasta VI on tullut standardi monen tyyppisille lääketieteellisille muovimateriaaleille. Kuitenkin myös luokilla I-V on myös edelleen laaja arvo. Eri luokkamerkinnöillä on tarkoitus jäljitellä materiaalin loppukäyttöä. [19]

3 Soluviljely

Elävien solujen biologian tuntemus on edistynyt sen ansiosta, että on opittu laboratorio-olosuhteissa keinotekoisesti kasvattamaan eläin- ja kasvipäisiä soluja. Soluviljelyolosuhteissa pyritään luomaan soluille mahdollisimman luonnollinen ympäristö [20]. Soluviljelyolosuhteissa kasvaakseen solut tarvitsevat tarkasti säädellyn ympäristön lämpötilan, ravintoaineiden ja pH -arvon suhteen [21].

Soluviljely vaatii ehdotonta aseptiikkaa ja huolellisuutta. Soluviljelylaboratoriossa on erikseen käytössä soluviljelykaapit sekä puhtaille, testatuille solulinjoille että testaamattomille solulinjoille. Tämä auttaa estämään kontaminaatioita toisista solulinjoista toisiin. Solulinjalla tarkoitetaan solupopulaatiota, joka pystyy kasvaamaan rajattomasti. [22]

Soluviljelyiden suurin ongelma ovat kontaminaatiot. Bakteerit, mykoplasmat, hiivat ja sienitiöt voivat päästä viljelyyn monista eri lähteistä, kuten laboratoriohenkilökunnasta, ilmasta, työtasoilta tai käytetyistä liuoksista. Oikealla aseptisellä menettelyllä voidaan välttää kontaminaatioiden pääsy soluviljelyihin. [23] Aseptiseen menettelyyn kuuluvat steriili työskentelyalue, steriilit reagenssit, hyvä henkilökohtainen hygienia ja steriilit työtavat. [24]

Kasvatusmedium on soluviljelyn ympäristön tärkein osa, sillä se tarjoaa solujen tarvitsemat ravinteet, kasvutekijät sekä hormonit ja se vaikuttaa solujen kasvuympäristön pH-arvoon ja osmoottiseen paineeseen. Kasvatusmediumeissa käytetään usein seerumia, joka toimii kasvutekijöiden, hormonien, lipidien ja mineraalien lähteenä. Seerumi vaikuttaa myös solukalvon läpäisevyyteen ja mahdollistaa näin lipidien, entsyymien ja hivenaineiden pääsyn solun sisälle. Seerumilla on myös haitallisia vaikutuksia, kuten solun kasvun ja toiminnan häiriöt. Lisäksi seerumi voi olla soluviljelyn kontaminaation lähde. [25]

3.1 Solunkasvatusalustat

Vuonna 1954 Toronton Connaught Medical Research Laboratories -tutkijat viljelivät apinan munuaissoluja 5L PYREX Povitskyn pulloissa viruksen kasvattamiseksi poliovirusrokotteen kehitystyön aikana. Tämä oli ensimmäinen soluviljelmä kaupallisen tuotteen valmistuksessa. Se oli myös läpimurto nykyaikaisen synteettisen soluviljelymateriaalien kehitykselle tutkimus- ja tuotantovälineihin. Solujen soluviljelyn haasteena oli solujen kiinnittyminen lasiseen kasvualustaan. George Grey keksi käyttää rotan kollageeniä jo 1956. Lasimaljat vaativat erittäin huolellisia puhdistusmenetelmiä solun kasvun varmistamiseksi, jotta pesuaineen jäämät eivät häirinneet soluprosesseja. Tämän seurauksena tutkijat ryhtyivät testaamaan kertakäyttöisiä muovimateriaaleja solunkasvatusalustoihin. [26]

Soluja voidaan kasvattaa joko suspensiossa tai kiinteällä alustalla. Suspensiossa voidaan kasvattaa suurempia solumääriä, mutta etenkin monet eläinsolulinjat eivät kykene kasvamaan irti alustasta. Tällaisia solulinjoja kasvatetaan kasvatusliuoksella peitettyinä lasi- tai muovipinnoilla pulloissa tai maljoilla, jossa ne muodostavat yksisolukerroksen. [27]

Soluviljelyt tehdään sopivassa astiassa, jossa on välttämättömiä ravintoaineita sisältävää kasvatusmediumia. Soluviljelyastioina käytetään joko maljoja, pulloja tai kuoppalevyjä. Kuviossa 2 on esimerkkejä solunkasvatusalustoista.



Kuvio 2. Thermo Fisherin Nuncolon -solunkasvatusalustoja [28]

Solujen jakautumista uusiksi kantasoluiksi tai erilaistuneiksi kantasoluiksi säätelee myös kasvualustan elastisuus. Tämä havaittiin lihaskantasolujen tutkimuksessa. Tutkimuksessa käytettiin aikuisen lihaskantasoluja ja useampaa erilaista kasvualustan elastisuutta. Siinä todettiin vääränlaisen elastisuuden johtavan solujen 12 kantasolunomaisuuden katoamiseen ja aiheuttavan solujen erilaistumisen. Oikeanlaisella elastisuudella kasvatetut kantasolut jakaantuivat hyvin ja istutettuina hiiren elimistöön ne erilaistuivat tarvittaviksi soluiksi. Tutkimuksessa lihassoluille kasvualustan paras elastisuus oli ~12kPa. [29]

3.2 CE- Merkki

CE -merkinnällä valmistaja osoittaa, että terveydenhuollon laite täyttää sitä koskevat olennaiset vaatimukset. Kun laite saatetaan EU:n alueella markkinoille, se on varustettava CE -merkinnällä. Jos terveydenhuollon laite kuuluu myös sellaisen muun lainsäädännön soveltamisalaan, jossa on säännöksiä CE -merkinnästä, merkinnän tulee osoittaa, että laite on myös näiden muiden säännösten mukainen. Sosiaali- ja terveysalan lupa- ja valvontavirasto voi antaa tarkempia määräyksiä CE -merkintöjen käytöstä terveydenhuollon laitteissa. [30]

Kaikkien CE -merkittyjen tuotteiden takana on laaja dokumentaatio, joka kattaa kaikki vaiheet tuotekehityksestä valmistukseen. Erityistä huomiota kiinnitetään turvallisuuteen ja laatuun. Merkittävät CE -merkintäprosessin osat ovat riskianalyysi, kliininen arviointi, valmistusprosessin validointi, tarvittaessa bioyhteesopiavuustestaus ja QC-testaus. CE -merkitty tuote vastaa Euroopan unionin antamia säädöksiä. [31]

Pakollisen CE-merkinnän edellytyksenä on valmistajan yksiselitteinen ja yksinomainen vastuunotto, että terveydenhuollon laite täyttää kaikki siihen kohdistuvat vaatimukset. Valmistajan on laadittava laitteesta EU:n vaatimuksenmukaisuusvakuutus ennen markkinoille saattamista. Vakuutuksella valmistaja ottaa vastuulleen, että tuote täyttää kaikkien sitä koskevien direktiivien vaatimukset sekä selvittää, mihin yhdenmukaistettuihin standardeihin tai muihin tapoihin valmistaja nojaa vaatimustenmukaisuuden osoittamisessa. [32]

Uuden lääkintälaitteasetuksen 2017/745 mukaan kasvatusalustoille on haettava CE-merkintä, jos soluja on tarkoitus kasvattaa potilaaseen siirrettäväksi osana hoitoa.

3.3 Substraatit

Kantasolujen kasvatus erilaistuneiksi soluiksi vaatii tietynlaisen kasvatusalustan. Kasvatusalustan pinnan pitää olla oikeanlainen, jotta kantasolut erilaistuvat halutunlaiseksi solukoksi. Solujen kasvatuksessa kolmiulotteisiksi kudoksiksi on myös alustassa olevien substraattien oikea tyyppi tärkeä. Sikiön signaalikeskukset erittävät viestimolekyylejä ja lähettävät kemiallisia viestejä tai kasvutekijöitä kantasoluille, jotta kantasolut tietävät, milloin pitää rakentaa verisuonistoa tai muuttaa pinnan muotoa. Viestimolekyylejä lähettävät signaalikeskukset ovat sikiöaikaisia väliaikaisia rakennelmia, jotka määrittävät rakennettavien elinten kolmiulotteiset muodot ja rakenteen. Kasvatusalustan materiaali saa olla mieluiten huokoista, biologista polymeeriä. Biologiset materiaalit, usein rotasta peräisin olevat, ovat solukolle helposti käytettäviä. Toisaalta eläinperäiset materiaalit ovat hankalia puhdistaa ja eläinperäisinä ne saattavat aiheuttaa hylkimistä ihmisen elimistössä ja niissä saattaa olla atogenejä. Merilevän ainekset ovat mahdollinen kasveista saatava haastaja eläinperäisille materiaaleille. Tulevaisuudessa lupaavin on kuitenkin synteettisten materiaalien tuleminen. Ne eivät ole millään lailla hylkimistä aiheuttavia. [33]

Yleisimmin käytetyt luonnolliset substraatit ovat kollageeni, fibronectiini ja lamiini. Solut toimivat vuorovaikutuksessa näiden matriisikomponenttien kanssa solun pintareseptoreiden kuten integriinien välityksellä. Yleisin synteettinen substraatti 2-ulotteiselle viljelmälle sisältää polylyysiiniä. Polysiinipolymeeri sisältää positiivisesti varautuneen aminoryhmän. [34]

Substraatti on entsyymireaktion lähtöaine, johon solu kiinnittyy. Useimmat entsyymit ovat hyvin spesifisiä. Spesifisyydellä tarkoitetaan entsyymin kykyä käyttää vain yhtä substraattia eli ne katalysoivat vain tiettyjä reaktioita. Substraatteina käytettiin erilaisia biologisia materiaaleja, kuten solun ulkoista matriisia, kiinnitys-

ja adheesioproteiineja, kuten kollageenia, laminiinia, fibronectiiniä, glykosaminoglykaania, hepariinisulfaattia, hyaluronidaasia ja kondroitiinisulfaattia, erikseen että sekoitteina. Synteettistä poly-D-lysiinin (PDL) käytetään mm. polystyreenin pinnoitteena, joka joissakin solutyypeissä voi parantaa solujen kiinnittymistä, kasvua, erilaistumista ja proteiinien imeytymistä vaihtelemalla pintavarauksia viljelyalustassa. Koska biologiset päällysteet ovat kalliita ja kasvatustulokset olivat vaihtelevia, kehitettiin plasmapinnoite parantamaan solujen kiinnittymistä vaikeissa olosuhteissa. Corningin tutkijoiden kehittämä patentoitu plasmakäsittelyprosessi, jossa lisätään happea polystyreeniin pinnalle, on patentoitu. Pinta on hydrofiilisempi, (kostutettava) samalla kun pinta on stabiilimpi verrattuna perinteiseen plasma- tai koronakäsiteltyyn. 2-D-luonteensa vuoksi perinteiset polystyreeni- ja lasipinnat eivät ole biologisesti parhaita alustoja edistämään in vitro -solujen kasvua, kuten in vivo 3-D-ympäristössä tapahtuu. Näiden rajoitusten voittamiseksi on kehitetty Ultra-Web-synteettinen nanofibrilloitupinnoite, joka mahdollistaa in vivo -tyyppiseen 3D-alustan, joka voi parantaa solunkasvun suorituskykyä ja toimivuutta. Ne voivat myös tarjota ihanteellisen substraatin, johon tutkijat voivat yhdistää solujen liittämistä ja kasvutekijöitä luomaan in vivo -tyyppisiä kasvu ympäristöjä. [35]

4 Lääkinnällisten laitteiden valmistus

Vaatimuksena laitteelle on, että sen tulee täyttää sitä koskevissa direktiiveissä olevat vaatimukset. Lääkinnällinen laite täyttää sille asetetut vaatimukset, kun se on suunniteltu, varustettu ja valmistettu standardien mukaisesti. Laitteen käyttötarkoitus tulee olla sopiva ja sen tulee saavuttaa sille suunniteltu toimivuus ja suorituskyky. Asianmukainen käyttö ei saa vaarantaa sitä käyttävien tai potilaiden terveyttä tai turvallisuutta. [36]

4.1 GMP

GMP on lääkealan laadunvarmistusjärjestelmä. Se takaa, että yrityksen toiminta täyttää alan vaatimukset. GMP kattaa sekä lopputuotteen valmistuksen että

testauksen. Se edellyttää materiaalien jäljitettävyyttä ja myös tuotanto noudattaa validoituja vakiotoimintamenetelmiä (SOP). Euroopassa soluhoidotuotteita koskeva vaatimus on esitetty useissa direktiivissä; 2004/23 / EY, direktiivissä 2006/17 / EY sekä 2006/86 / EY. Nämä asettavat laatu- ja turvallisuusstandardit ihmisperäisten kudosten ja solujen luovuttamiseen, hankintaan, testaukseen, käsittelyyn, säilömiseen, varastointiin ja jakeluun. Lainsäädäntöä on kehitteillä parasta aikaa, ja uusia direktiivejä ja on tulossa (EU-asetus 1394/2007, suuntaviiva EMEA / CHMP / 410869). Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus Fimea myöntää Suomessa GMP todistuksia tarkastuksen perusteella. [37]

Validointityöhön kuuluvat oleellisesti tuotantolaitteiden kvalifointi ja prosessin validointi. Käytännössä tuotantolaitteiden kvalifointi toteutetaan tekemällä laitteille suunnitelmien tarkastus (DQ), asennus- ja käyttöönottotarkastus (IQ), toiminnan testaus (OQ) sekä suorituskykytestit (PQ). Tuotantolaitteiden kvalifointiin kuuluu myös laitteiden asianmukaisten kalibrointi-, kunnossapito- ja puhdistusohjeiden sekä työ- ja toimintaohjeiden (SOP:ien) laatiminen. Prosessin validoinnissa laaditaan dokumentoidut todisteet siitä, että prosessi toimii vakaasti ja tuotteelle asetetut vaatimukset täyttyvät johdonmukaisesti. [38]

4.2 Valmistus puhdastilassa

Puhdastila on tila, jossa ilmassa esiintyvien partikkeleiden määrää kontrolloidaan, minimoimalla niiden sisäänpääsy, syntyminen ja viipymä tilassa. Lisäksi tilassa kontrolloidaan asetetun luokituksen mukaisesti lämpötilaa, kosteutta ja ilmanpaineiden suhdetta. Euroopassa käytössä olevat standardit ovat ISO-14644 luokat 1-8 ja GMP luokat A-D Puhdastilatekniikalla minimoidaan haitallisten hiukkasten ja mikrobien aiheuttamat ongelmat prosesseissa, tuotantotiloissa ja laboratorioissa. Puhdastilat suojaavat sekä ihmistä että tuotantoa. [39]

ISO 14644-1 -standardissa puhdastila on määritelty tilaksi, jossa ilman hiukkaspitoisuutta valvotaan, joka on rakennettu siten, ja jota käytetään sellaisella tavalla, että hiukkasten pääsy, kerääntyminen ja säilyminen huoneen sisällä on

minimoitu. Lisäksi valvotaan muita suureita, joita ovat mm. lämpötila, kosteus sekä paine tarpeen mukaan. [40]

EU:ssa GMP:n mukaan valmistus luokitellaan neljään puhtausluokkaan: A, B, C ja D. Näistä A on puhtausluokaltaan korkein. Sen käyttökohde lääkevalmistuksessa käsittää usein työskentelyn laminaarikaapissa eli esimerkiksi lääkevalmistusten pakkauksen. B:ksi luokiteltu alue on aseptisen työskentelyn tila, se ympäröi useimmiten tilaa A. Tiloissa C ja D työskentely on tarkoitettu töille, jotka eivät ole niin kriittisiä puhtausluokan suhteen. Tällaisia töitä voivat olla esimerkiksi tilassa C steriilisodatettujen liuoksien valmistus ja tilassa D materiaalien valmistus edellä mainittuihin prosesseihin. [41] Taulukossa 2 on EU:n GMP -luokittelu puhdastilasta ja vertailu ISO 14644 standardin vastaavaan luokittukseen.

Taulukko 2. GMP -puhdastilavaatimukset ja vertailu standardin ISO 14644-1 vaatimuksiin.

GMP Classification

EU GMP Class	At Rest		In Operation	
	Max. permitted Number of Particles / m ³ (equal or above)			
	0,5 µm	5,0 µm	0,5 µm	5,0 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900
C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	not defined	not defined

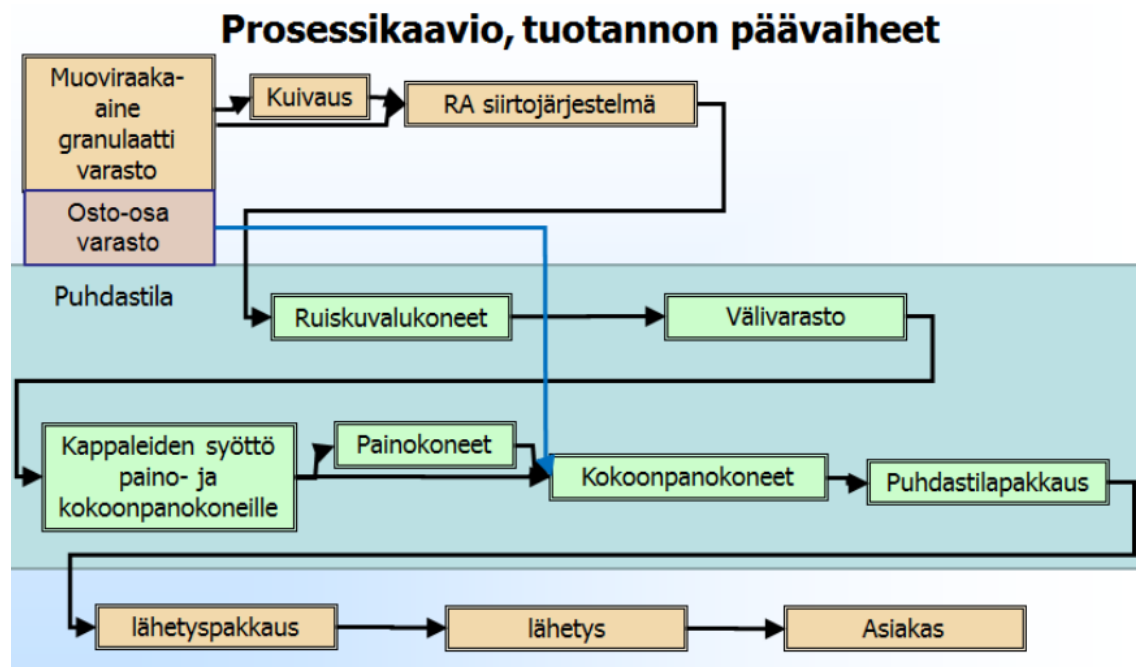
Comparison of the Cleanroom Classification according to DIN EN ISO 14644-1 and the EU GMP Guideline

ISO 14644-1	EG-GMP non operational	EG-GMP operational
1		
2		
3		
4		
5	A / B	A
6		
7	C	B
8	D	C
9		

Puhdastilojen puhtaudelle käytetään standardia SFS- EN ISO 14644 Puhdastilat ja puhtaat alueet. Standardin osat 4 ja 6 on julkaistu suomeksi. Standardia käytetään puhdastilojen suunnittelussa, rakentamisessa, käytössä ja ylläpidossa,

jolloin puhdastila täyttää sille asetetut vaatimukset. Standardia voidaan käyttää terveydenhuollossa ja teollisuudessa, jossa halutaan pitää epäpuhtaudet poissa, kuten avaruustekniikka, mikroelektroniikka, lääketeollisuus sekä terveydenhuollon laitteet ja tarvikkeet. Julkaisussa määritellään puhdastilojen suunnittelua ja rakentamista koskevat vaatimukset. Siinä on hyödyllinen tarkistuslista suorituskykyyn vaikuttavista parametreista. Standardista on hyötyä puhdastilojen ostajille, toimittajille ja suunnittelijoille, koska siinä annetaan puhdastilan rakentamista koskevia ohjeita sekä esitetään suunnitteluun ja rakentamiseen liittyviä peruselementtejä, joiden avulla varmistetaan jatkuva turvallinen toiminta. [41]

Kuviossa 3 on esimerkki muovituotannosta, jossa on puhdastila. Sinisellä keskellä on puhdastilan sisällä tapahtuvat prosessit. Yleensä minimoidaan puhdastilaan vaadittava alue. Tuotannosta voidaan eristää vain yksi tuotantolinja puhdastilaksi tai osa prosessista, jolloin investoinnin eivät kasva liian suuriksi ja minimoidaan riskit.



Kuvio 3. Esimerkki muovituotannon prosessikaaviosta, jossa on puhdastila [43]

4.3 ISO 1345-2016 laatu

ISO 13485 on laatujärjestelmästandardi, joka ohjaa terveydenhuollon laitteiden ja tarvikkeiden toimitusketjuun ja elinkaareen osallistuvien yritysten toimintaa. Monessa maassa standardin vaatimusten noudattaminen on tehty käytännössä pakolliseksi. [44]

Laadunhallinnan tarkoitus on varmistaa, että kaikille tuotetuille lääkkeille ja lääkelaitteille on tehty tarvittavat näytteenotot ja testit ennen kuin ne voidaan toimittaa eteenpäin. Testimetodien tulee olla validoituja. Tarkastukset, näytteenotot ja testit kirjataan, jotta voidaan todeta, että ne on tehty. Poikkeamat on kirjattava ja selvitettävä kokonaisuudessaan. Tuotantoerä ei saa toimittaa eteenpäin ennen kuin QP on tarkastanut ne. Kaikkien näytteenottoon ja testeihin liittyvien materiaalien, tarvikkeiden, palveluiden ja tilojen pitää olla GMP-soveltuvia. [45] Kuvioon 4 on kuvattu standardin SFS-EN ISO 13485:2016 periaatteet laadun johtamisen tekijöistä.



Kuvio 4. Standardin SFS-EN ISO 13485:2016 periaate laadun tekijöistä.

Päivitetty ISO 13485:2016 -standardi kattaa yrityksen toiminnan aiempaa laajemmin. Uudistuneessa versiossa tarkastellaan entistä tarkemmin tuotantoa ja koko toimitusketjua. Standardi keskittyy erityisesti siihen, miten organisaatioiden tulisi

hallinnoida riskeihin perustuvia päätöksiä hankinnan, suunnittelun, kehityksen, valmistuksen ja tuotannonvalvonnan sekä muiden laadunhallintajärjestelmän näkökohtien osalta. [46]

5 Muovimateriaalien saatavuus

Ruiskuvalajille muovimateriaaleja toimittavat pääasiassa muovimateriaalien jälleenmyyjät Suomessa. Valmistajien muovimateriaaleja voidaan nykyään hankkia monesta erikanavasta, koska EU haluaa enemmän vapaata kilpailua myös muovimateriaalien jakeluun. EU:n periaatteiden mukaan tuotteita ja palveluita voidaan myydä vapaasti EU:n alueella ilman rajoitteita. Jos jakelija on materiaalin maahantuoja EU:n alueella myymälleen muovimateriaalille, maahantuojan on varmistuttava, että muovimateriaalin raaka-aineet ovat rekisteröityjä REACH:n mukaisesti tai hoidettava rekisteröinti itse.

5.1 REACH - ja CLP -asetus

Lainsäädäntö tunnustaa jakelijan roolin toimitusketjussa kemikaaliturvallisuutta koskevan tiedonvaihdon mahdollistajana valmistajien ja asiakkaiden välissä ihmisten ja ympäristön suojaamiseksi kemiallisilta riskeiltä. Materiaalin toimittaja on REACH- ja CLP -asetusten mukainen jakelija, jos jakelija hankkii ainetta tai seosta ETA -alueelta, varastoi sitä ja saattaa sitten markkinoille jonkun toisen puolesta (myös omalla tuotemerkilläänne muuttamatta kemiallista koostumusta millään tavalla).

Esimerkiksi vähittäismyyjät ja tukkumyyjät ovat REACH- ja CLP -asetusten mukaisia jakelijoita. Pääasiallinen vastuu on toimitusketjussa tiedottaminen. Sama vastuu koskee kaikkia aineiden, seosten ja esineiden toimittajia, valmistajia, maahantuojia, jatkokäyttäjiä ja jakelijoita. [47]

Suuret valmistajat ovat nimenneet omien muovimateriaalien toimittajiksi jakelijoita, joilla on tarvittava osaaminen, vakavaraisuus ja voimassa oleva

sertifioitulaatujärjestelmä, jonka lisäksi he noudattavat päämiehensä eettisiä ohjeita. Edustukset vaihtelevat nykyään hyvin usein ja saattavat ovat alueellisia. Taulukkoon 3 on kerätty Suomessa suurimpia aktiivisesti toimivia muovimateriaalien jakelijoita.

Taulukko 3. Muovimateriaalin jakelijoita Suomessa.

Jakelija	Edustukset
Albis Plastics	Albis Plastics, Basell, BASF, Covestro, Ineos Styrolusion
Baritec	Ineos, Lehmann & Voss, Taroplast
Buratec	API Italy, Polykemi, Arkema
Telko	Exxon Mobil, Total, EMS-Grivory, Hexpol TPE, LG Chem, Lotte, A.Schulman, Polymarky, Kolon
Distrupol Nordic	Sabic , Chimei, Du Pont, Sibur, LG Chem , Ineos
K.D. Feddersen	Celanese, Evonik, Akro-Plastic, Elix, Teijin, Mitsubishi Chemicals
Nexeo	Borealis, Eastman, Trinseo
Erteco	Sabic, Synthos, Ducor, Great Eastern, Mitsubishi Rayon, Asahi Kasei
Ultrapolymers	LyondellBasell, Domo, Enplast, Samyang, Styrolusion, Teijin
Velox	Arkema, Trinseo, Sumitomo, Asahi Kasei
Septor	Solvay

6 Kasvatusalustoissa käytettävät muovimateriaalit

Muovimateriaalit koostuvat muovimolekyylivetjuista, lisäaineista, apuaineista ja epäpuhtauksista. Kasvatusalustoissa käytetään yleensä läpinäkyviä kertakäyttöisiä bioyhteesopivia muovimateriaaleja. Laboratoriokäytössä on valittava sopiva muovimateriaali, jotka ei vaikuta testituloksiin ja solujenkasvuun negatiivisesti. Muovimateriaalit eivät saa sisältää liian paljon epäpuhtauksia, lisä- ja apuaineita. Kuitenkin muoveja on kyettävä työstämään ja siksi ilman apu- ja lisäaineita se voisi olla mahdotonta.

Bioyhteesopivat, elintarvike- ja lääkekontaktiin sopivat muovimateriaalit, joiden lisä- ja apuaineiden siirtymät eivät ylitä käyttökohteeseen asetettuja raja-arvoja. Raja-arvoja kemikaalien siirtymille ovat asettaneet mm. EU, Euroopan farmakopea (EP), Yhdysvaltojen farmakopea (USP), Yhdysvaltojen lääkevirasto (FDA) ja

standardi ISO 10993. Haasteellisia muovimateriaalien ainesosissa siirtymien kannalta ovat:

- jäännösmonomeerit
- kirkasteet
- nukleointiaineet
- prosessiapuaineet
- antioksidantit
- stabilisaattorit
- muuttuvat säädökset.

Edellä mainitut muovien ainesosat voivat olla hyväksytyjä teknisissä sovelluksissa mutta kontaktimateriaaleissa ja lääkintälaitesovelluksissa niiden käyttö voi olla rajoitettua. Materiaalin valinnan yhteydessä kannattaa selvittää, onko muovimateriaalille saatavissa EP:n tai USP:n hyväksyntöjä ja keskustella muovimateriaalitoimittajien kanssa materiaalin soveltuvuuksista.

Muovit ovat hydrofobisia materiaaleja ja omaavat näin ollen matalan pintaenergian. Muovien pinnan käsittelyillä voidaan nostaa pintaenergiaa ja tällä tavoin pinnasta saadaan hydrofiilinen. Tämä on suotavaa solujen kanssa kosketuksissa oleville laboratorio- ja hoitotarvikkeille, sillä monet solut kiinnittyvät hydrofiiliseen pintaan huomattavasti paremmin kuin hydrofobiseen. Jos soluilla kestää kiinnittyminen kauan, voivat ne kuolla. Monet eukaryoottisolut kasvavatkin kunnolla vain, jos ne pystyvät kiinnittymään pintaan hyvin. Yleensä muovimateriaalien tulee bioyhteensopiva ja täyttää USP VI -luokituksen. Alustat myydään valmiiksi steriloituna ja pinnat ovat käsitelty erilaisilla substraateilla riippuen muovimateriaalista ja solunkasvatuskäyttökohteesta.

Vaikka muovimateriaalin valmistajat ovat testanneet materiaalin bioyhteensopivuuden tai vakuuttavat, että materiaali on bioyhteensopiva, on lopputuote aina testattava ja sille on haettava myyntiluvat myyntialueelle, jossa tuotetta käytetään. Kasvatusalusta, joka käytetään kantasolujen kasvatukseen, luetaan uuden EU:n asetuksen mukaan lääkinnälliseksi laitteeksi ja niille on haettava CE -merkki.

6.1 Alustojen kemiallinen kestävyys

Muovimateriaalien kemiallinen kestävyys on yksi tärkeimmistä ominaisuuksista materiaalin valinnassa. Lääketieteelliset osat ovat tavallisesti alttiina mm. seuraaville aineille:

- lipidit ja rasvaemulsiot (joita tyypillisesti käytetään veren ja lääkeaineiden kantoaineina)
- alkoholit, isopropanoli ja etyylialkoholi
- sairaalan siivous- ja muut kemikaalit
- valkaisuaineet mm. vetyperoksidi, suolaliuos
- ruumiin nesteet
- kemoterapiassa käytetyt lääkeaineet.

Kemikaalit voivat vaikuttaa muovimateriaalin lujuuteen, joustavuuteen, ulkonäköön, väriin, mittoihin tai muovituotteen massaan. Materiaalin valinnassa testaus on paras tapa varmistua kemiallisesta kestävydestä.

6.2 Sterilointi

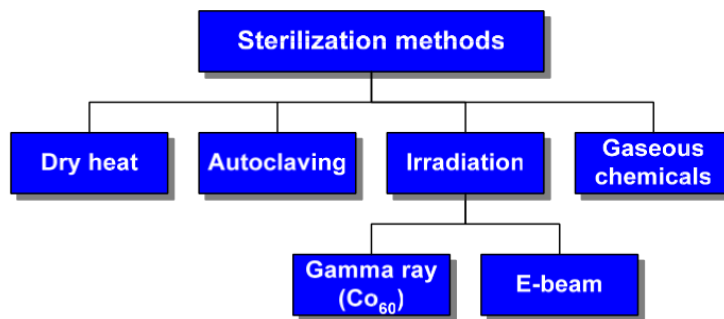
Sterilointi on toimenpide, jolla käsiteltävästä materiaalista tuhoetaan kaikki mikrobit. Desinfektio sen sijaan tähtää kasvuvaiheessa olevien bakteerien, virusten ja mikrosienien, mutta ei välttämättä bakteeri-itiöiden tuhoamiseen. Desinfektion tarkoituksena on poistaa tai hävittää potilaille haitalliset tauteja aiheuttavat mikrobit ja alentaa mikrobipitoisuus turvalliselle tasolle. [48]

Lääkinnälliset laitteet ja komponentit, jotka ovat yhteydessä kehoon, tulee steriloida. Kertakäyttöisen tuotteen on esimerkiksi pystyttävä steriloidaan vain kerran. Toisaalta tiettyjä tuotteita käytetään useita kertoja ja niiden on kyettävä kestämään toistuvat sterilointisyklit. Monikäyttötuotteet voivat altistumista useammalle kuin yhden tyyppiselle sterilointimenettelylle tai -menetelmälle sen käyttöänsä aikana. Bioyhteensopivien materiaalien ja tuotteiden ominaisuudet

eivät saa heiketä liikaa sterilointiprosesseissa. Sterilointi tulee siis ottaa huomioon materiaalin valinnassa.

6.2.1 Sterilointimenetelmät

Sterilointi voidaan toteuttaa vesihöyryllä, etyleenioksidikaasulla, beetasäteilyllä, gammasäteilyllä tai matalan lämpötilan sterilointimenetelmiä käyttäen. Matalan lämpötilan menetelmiä ovat mm. plasmakaasusterilointi sekä sterilointi peroksidilla, otsonilla tai glutaraldehydillä. Sterilointi vahingoittaa kuitenkin usein muovituotteen pintaa ja aikaan saa siinä kemiallisia ja fysikaalisia reaktioita ja muutoksia. [49]. Kuvioon 5 on kerätty yleisimmät sterilointimenetelmät.



Kuvio 5. Yleisimmät sterilointimenetelmät.

Autoklaavi on laite, jota käytetään höyrysterilointiin. Autoklaavit voidaan jaotella väliaineen mukaan kolmeen ryhmään:

- höyryautoklaavi
- kaasautoklaavi
- plasma-autoklaavi.

Kuivalämpösterilointia ei yleensä pidetä muoville sopivana sterilointimenetelmänä muovien matalan lämmönjohtumisen vuoksi ja on vaikeaa varmistaa, että kaikki tuotteen osat ovat altistuneet vaaditulle lämpötilalle riittävän kauan. Useimmat muovit hajoavat pitkäaikaisen kuivasteriloinnin aikana.

Lääketieteelliset instrumentit ovat steriloitava aina ennen käyttöä, pelkkä desinfiointi ei riitä.

6.3 Muovimateriaalit

6.3.1 Polystyreeni

Polystyreeni on läpinäkyvä amorfinen muovimateriaali, joka on yleisin laboratoriossa käytettävien solun kasvatusalustojen materiaali. Polystyreeni on kemiallisesti inertti, joka kestää happoja ja emäksiä mutta liukenee helposti kloorattuihin ja hiilivetyliuoksiin. Polystyreeni läpäisee USP VI -luokan, joten sitä voidaan käyttää kertakäyttöisissä terveydenhuollon käyttökohteissa mutta valmistajat eivät suosittele PS materiaalia implanteihin. Polystyreeniä käytetään paljon solunkasvatusalustoissa, koska sillä on erinomaiset optiset ominaisuudet, sitä on helppo muokata ja se voidaan steriloida säteilytyksellä.

Kuitenkin sillä on myös yksi merkittävä haittapuoli - se on erittäin hydrofobinen (vettä hylkivä) polymeeri, johon soluilla on vaikeuksia tarttua. Hydrofobinen polystyreenipinta täytyy muuttaa hydrofiiliseksi pinnaksi. Tämän jälkeen substraatti pysyy (vitronektiini ja fibronektiini) sen pinnalla ja tarjoaa paremman pinnan soluihin kiinnittymiseen. Polystyreenille sopivat sterilointimenetelmät ovat gamma-, beta-, elektronisuihku- (e-beam) ja etyylioksidisterilointi (EtO). Taulukossa 4 on PS:n toimittajia.

Taulukko 4. PS:n toimittajia

Ineos Styrolusion	Styrolusion	Albis, Ultrapolymers, Distrupol
Total	Total PS	Telko
Lotte	Starex	Telko
Trinseo	Styron	Nexeo
Synthos	Synthos PS	Erteco

6.3.2 S/B

S/B on styreeni-butadieeni-kopolymeeri, joka on PS:n sukulainen. Kirkas S/B eroaa normaalista S/B:tä siinä, että sen butadieenikumipartikkelit ovat erittäin pieniä ja tasaisesti jakaantuneet, tämä mahdollistaa läpinäkyvyyden. S/B:ssä yhdistyvät hyvä iskutkeys, jännityssäröilyn kesto ja läpinäkyvyys. S/B:tä voidaan sekoittaa muun muassa normaalin S/B:n, ABS:n, SAN:n tai SMMA:n kanssa niiden iskunkestävyyden ja kiillon parantamiseksi. S/B sopii ruiskuvaluun, ekstruusi-oon ja puhallusmuovaukseen.

Saatavilla on lajeja, jotka sopivat lääkinällisiin sovelluksiin, jotka täyttävät USP VI -luokituksen. S/B:n on yhteensopiva veren kanssa eikä se ole myrkyllisille soluille. SBC ei ole allergisoiva ja se voidaan steriloida gamma-, beta-, elektronisuihku- sekä EtO -menetelmillä. Samoin kuin PS on S/B:n pinta hydrofobinen ja se vaatii käsittelyn, että solut tarttuisivat sen pintaan solunkasvatusalustoissa. Taulukosta 5 löytyy S/B:n toimittajia.

Taulukko 5. S/B:n toimittajia

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Ineos Styrolusion	K-resin, Styrolux	Albis
Chimei	Kibiton	Distrupol
Denka	Clearen	Telko
Asahi Kasei	Asaflex	Nexeo

6.3.3 ABS

ABS on erittäin iskutkeä muovimateriaali, jota on saatavissa myös läpinäkyvänä versiona (MABS). Läpinäkyvyys on saatu lisäämällä siihen metyylietakrylaattia. ABS sopii lääkintälaitesovelluksiin ja sitä on saatavissa bioyhteensopivina lajeina. ABS:ä voidaan steriloida gamma-, beta-, elektronisuihku- sekä EtO -sterilointimenetelmillä. Mekaaniset ominaisuudet eivät muutu juurikaan steriloinnin jälkeen. ABS:n kestää terveydenhuollon desinfiointiaineita ja puhdistusaineita, kuten valkaisuainetta hyvin. Kasvatusalustoiden materiaalina ABS:ä käytetään harvoin. PS:n tavoin ABS:n pinta on myös vettä hylkivä. ABS:n pintaa pitää

käsitellä, että sitä voitaisiin käyttää solunkasvatusalustoina. Taulukkoon 6 on kerätty ABS:n toimittajia.

Taulukko 6. ABS:n toimittajia.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Ineos Styrolusion	Novodur	Albis
Elix	Elix ABS	KD Feddersen
Sabic	Cycolac	Erteco
LG Chem	LG ABS	Telko, Distrupol
Lotte	Starex	Telko
Trinseo	Styron	Nexeo, Resinex

6.3.4 PMMA

PMMA:n läpinäkyvyyden ansiosta sitä nimitetään synteettiseksi lasiksi, joskus myös akryylilasiksi. PMMA -materiaali läpäisee 93% valoa ja se ei suodata UV -valoa 300 nm ja infrapunasäteilyä 280 nm asti. Akryylit kestävät useimpia kemikaaliliuoksia, kuten pesuaineita, puhdistimia, laimennettuja epäorgaanisia happoja ja alifaattisia hiilivetyjä. Ne kestävät heikosti kloorattuja ja aromaattisia hiilivetyjä, estereitä ja ketoneita. Ne liukenevat täydellisesti kloroformiin, di- ja trikloorieteeniin. Niiden kemiallinen kestävyys vaihtelee riippuen altistusajasta, jännitystasosta, lämpötilasta ja reagenteista. PMMA:ta voidaan käyttää esim. piilolinseissä, sillä hyvän läpäisevyytensä lisäksi se on ihmiskudoksen kanssa yhteensopiva. Erinomainen läpinäkyvyys, UV -kestävyys ja naarmuuntumisen kesto sekä hyvä kemiallinen kestävyys tekevät akryylipolymeereistä sopivan materiaalin kertakäyttöisen lääketieteellisen diagnostiikan laitteiden sekä implanttien valmistukseen. Luonnollisesti PMMA:lle on saatavissa USP VI - ja bioyhteensopiavuushyväksyntöjä. Solunkasvatuslaitteissa vaaditaan alustan pinnalta hydrofiilisuuutta, joten PMMA on käsiteltävä substraateilla tarvittaessa. PMMA:lle sopivat sterilointimenetelmät ovat gamma-, beta-, elektronisuihku- ja etyylioksidisterilointi. Taulukkoon 7 on kerätty PMMA:n toimittajia.

Taulukko 7. PMMA:n toimittajia.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Evonik	Plexiglas, Cyrolite	KD Feddersen
Arkema	Altuglas, Oroglas,	Resinex
Mitsubishi, Lucite	Shinkolite, Acrypet, Diacon	Ultrapolymers
LG MMA	LG PMMA	Telko
Sumitomo	Sumipex	Nexeo

6.3.5 SMMA

SMMA on amorfinen lasikirkas muovimateriaali, jossa yhdistyvät PMMA:n, PC:n, MABS:n sekä styreenimuovien ominaisuudet. Materiaalin pinta sietää paremmin naarmuuntumista kuin PS. Lämmönsieto on alempi kuin PC:n mutta SMMA-tuotteita voidaan pestä astianpesukoneissa monia kertoja. Kemikaalinkesto on parempi kuin polystyreenillä. Saatavilla on bioyhteensopivia lajeja, joilla on USP VI -, EP:n ja elintarvikehyväksyntöjä. SMMA on erittäin mielenkiintoinen solunkasvatusalustoissa PS:ä parempien ominaisuuksien takia. SMMA:ta voidaan steriloida gamma-, beta-, elektronisuihku- sekä EtO -sterilointimenetelmillä. SMMA on myös hydrofobinen, jolloin sen pintaa on käsiteltävä, että se toimii solunkasvatusalustoissa. SMMA on tullut markkinoille 2000-luvulla ja se erittäin mielenkiintoinen muovimateriaali. Taulukkoon 8 on kerätty SMMA:n toimittajia.

Taulukko 8. SMMA:n toimittajia.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Ineos Styrolusion	NAS, Zylar	Albis, Ultrapolymers, Distrupol
Denka	Clearen	Telko
Chimei	Acrystex	Distrupol
LG MMA	LG SMMA	Telko

6.3.6 Polyesterit

Polyestereitä on saatavana osakiteisenä ja amorfisena. Amorfisia ovat kopolymerit PETG ja PCTG. Lisäksi osakiteinen PET jää nopeassa jäähdytyksessä amorfiseksi. Niitä voidaan käyttää solunkasvatusalustoissa. Kopolyestereillä

PETG:ä ja PCTG:ä on paljon paremmat iskuominaisuudet ja lämmönkesto kuin PET:llä ja sen väri ei muutu opaaliksi korkeassa lämpötilassa. Materiaalien organoleptiset ja barrier -ominaisuudet ovat erinomaiset, jolloin pakattavaan materiaalin ei siirry makuja tai hajuja materiaalista tai ympäristöstä. Molempia polyesterilajeja voidaan käyttää terveydenhuollon sovelluksissa ja niille on saatavissa elintarvike-, USP IV- ja EP -hyväksyntöjä. Solunkasvatuksessa käytetään paljon polyesterilajeja. Materiaalin pinnan hydrofobisuutta alennetaan esimerkiksi kollageenilla.

Käyttökohteita lääketeollisuudessa ovat mm:

- lääkepakkaukset
- injektioruiskut ja sen osat
- solunkasvatuspullot
- huokoiset solunkasvatusinsertit.

Polyestereille sopivat sterilointimenetelmät ovat gamma-, beta-, elektronisuihku- ja etyylioksidisterilointi. Taulukossa 9 on esillä polyesterin toimittajia.

Taulukko 9. Polyestereiden toimittajia.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Equipolymers	Lighter	Telko
Eastman	Tritan	Albis, Bang & Bonsomer
Neogroup	Neopet	-
Polisan Hellas	Polipet	-
Sabic	Sabic PCG	-
SK Chemicals	Skypet	-
Lotte Chemicals	Lotte PET	-

6.3.7 PC

Polykarbonaatti (PC) on lääketieteellisten laitteiden ja lääkepakkausten erittäin tärkeä materiaali edelleen vaikka se sisältää Bisfenoli-A:ta (BPA). Monia

polykarbonaattilajikkeita käytetään lääketieteellisissä sovelluksissa ja ne täyttävät sekä standardin ISO 10993-1 että USP luokan VI vaatimukset.

Bisfenoli-A on muovin raaka-aine, jota käytetään polykarbonaattimuovien valmistuksessa. BPA -kemikaalin turvallisuudesta on raportoitu hyvin ristiriitaisia tutkimuksia ja aihe jakaa asiantuntijoiden mielipiteet. Sekä Pohjois-Amerikassa että EU:ssa BPA:n turvalliseksi päivittäiseksi käyttörajaksi on asetettu 50 ng/ml. Elin-
tarviketurvallisuusviranomaiset ovatkin vakuuttaneet, ettei BPA:sta ole haittaa ihmisille.

PC:n hyviä ominaisuuksia ovat suuri lujuus, sitkeys, jäykkyys ja monipuoliset sterilointimenetelmät. PC:n tuotteita voidaan steriloida etyleenioksidilla, gamma säteilyllä, beetasäteilyllä, elektronisuihkulla ja höyryllä autoklaavissa. Rasvat ja öljyt(lipidit) aiheuttavat PC:n jännityssäröilyä. Uusilla siloksaanikopolymeereillä on parempi öljyenkesto kuin tavallisella PC:llä. Solunkasvatuksessa PC:ä käytetään paljon kasvualustan insertteinä sen hyvien kasvatulosten takia sekä solujen kiinnittyminen PC:n pintaan onnistuu hyvin. PC:n pinta on käsiteltävä siten, että se on hydrofiilinen. Taulukossa 10 on PC:n toimittajia Suomessa.

Taulukko 10. PC:n toimittajia.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
DSM biomed	Xantar	KD Feddersen
Covestro	Makrolon	Albis
Chimei	Wonderlite	Ultrapolymers
Lotte	Starex	Telko
LG Chem	Lupoy	Telko
Mitsubishi	Iupilon	Ultrapolymers
Sabic	Lexan	Erteco
Samyang	Trirex	Ultrapolymers
Trinseo	Calibre	Resinex , Nexeo
Teijin	Panlite	KD Feddersen, Ultrapolymers

6.3.8 COC

COC on amorfinen, läpinäkyvä kopolymeeri, joka perustuu eteenin ja norborneenin polymerointiin metalloseenikatalyyteillä. Sykliset olefiinikopolymeerit ovat erittäin puhtaita, kristallinkirkkaita materiaaleja, joilla on ainutlaatuisia ominaisuuksia. Valon läpäisevyys on 91 %, joka on PMMA:n tasoa. COC -materiaalia voidaan käyttää lääkepakkauksiin ja se biohyhteensopiva. Materiaali täyttää USP VI -vaatimukset ja sekä siitä valmistetut tuotteet läpäisevät standardin ISO 10993. COC kestää kosteutta, alkoholia ja happoja. COC:ta voidaan steriloida etyleenioksidilla, gammasäteilyllä, beetasäteilyllä, elektronisuihkulla ja höyryllä autoklaavissa. Materiaali sietää jopa 170 °C lämpötiloja ja jatkuvasti 100°C. Materiaali sopii erittäin hyvin mikrolevyihin, kyvetteihin ja solunkasvatusalustoihin PP:n, PS:n tai PC:n sijaan, kun puhtausvaatimus on korkea. COC sopii hyvin lääkepakkauksen materiaaliksi sen barrier -ominaisuuksien takia, lääkeainetta voidaan varastoida pidempää COC:sta valmistetussa pakkauksessa. Myös COC muovimateriaali on hydrofobinen ja se tarvitsee käsittelyn, että COC -materiaalista tehdystä kasvatusalusta voidaan käyttää solunkasvatukseen. Taulukoon 11 on kerätty COC:n toimittajia.

Taulukko 11. COC:n toimittajia

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Polyplastics	Topas	Velox
Mitsui Chemicals	Apel	Telko

6.3.9 PSU, PES ja PPSU

Polysulfonimuovit ovat lähes läpinäkyviä, myrkyttömiä ja erittäin vahvoja muovimateriaaleja. Niiden lämmönkeston ja steriloitavuuden takia niitä käytetään paljon sairaalatarvikkeiden materiaaleina.

Polysulfoni (PSU) kestää happoja, emäksiä, vesiliuoksia, alifaattisia hiilivetyjä ja alkoholeja erittäin hyvin. Väritään PSU on hieman kellertävää. PSU täyttää USP VI -vaatimukset ja on olemassa myös biohyhteensopivia lajeja. PSU:sta

valmistetaan laboratorioihin sentrifugiputkia, uudelleenkäytettäviä suodatuslaitteita ja laimennuspulloja.

Polyeetterisulfoni (PES) on muuten samanlainen kuin PSU mutta tämän materiaalin lämmönsieto on jopa 180 °C, kun taas PSU kestää vain 150 °C. PES kestää erityisen hyvin rasvoja. Polyfenyleenisulfoni (PPSU) kestää eniten sulfonimuoveista lämpöä jopa 200 °C jatkuvasti. PPSU:a voidaan steriloida lähes rajoittomasti höyryllä.

Sulfonimuoveja on saatavilla USP VI -hyväksynnöillä ja ne ovat myös bioyhteensopivia. Sulfonimuovien ruiskuvalu on haasteellista ja on varmistuttava, ettei tuotteeseen jää sisäisiä jännityksiä, jotka voivat aiheuttaa tuotteen hajoamisen käytössä. Taulukoon 12 on kerätty sulfonimuovien toimittajia.

Taulukko 12. Sulfonimuovien toimittajia.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Basf	Ultrason S & E	Albis
Solvay	Udel, Radel A, Radel R	Septor

6.3.10 PEI

Amorfinen polyeetteri-imidi (PEI) on korkean lämpötilan muovi, jota käytetään paljon mm. laboratoriolaitteissa ja terveydenhuollon sovelluksissa. PEI:n sulamispiste on noin 370 °C. PEI -muovimateriaali kestää kaikkia sterilointimenetelmiä ilman, että se menettää mekaanisia ominaisuuksiaan. Väriältään PEI on tummahkon läpinäkyvä muovimateriaali. Kemikaalin- ja hydrolyysinkestävyys on korkeaa luokkaa. Saatavilla on bioyhteensopivia lajeja, joilla on myös USP VI -hyväksyntä. Solunkasvatusalustojen materiaalina tai insertteinä PEI:ä käytetään harvoin, mutta laboratoriossa materiaalia käytetään uudelleen käyttäviin tuotteisiin sen steriloitavuusominaisuuksien takia. Taulukossa 13 on PEI:n toimittaja.

Taulukko 13. PEI:n toimittaja.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
Sabic	Ultem	Erteco

6.3.11 PMP

Polymetyylipenteeni on osakiteinen polyolefiinikopolymeeri (PMP). Materiaalia voidaan verrata polypropeeniin, jonka lisäksi se on erittäin läpinäkyvä. PMP:n hydrolyysinkeston lisäksi materiaalilla on erinomaiset optiset ominaisuudet, lämmön ja kemiallinen kestävyys. PMP:ä on myös hyvät barrier -ominaisuudet. Materiaalin sulamispiste on noin 230 °C

PMP-tuotteita voidaan steriloida etyleenioksidilla ja höyryllä autoklaavissa, joten siitä voidaan valmistaa uudelleen käytettäviä laboratoriovälineitä. Vaikka valmistaja ei ole testauttanut materiaalia USP VI:n mukaisesti on PMP kirjallisuuden mukaan bioyhteensopivamuovimateriaali. PMP materiaalia käytetään paljon laboratoriotarvikkeiden materiaalina sulkimiin, mittalaseihin, kannuihin ja putkiin. Solunkasvatusalustoihin PMP sopii erittäin hyvin, sen läpinäkyvyyden ja kemikaalien keston takia, joskin tuotteen pintaa pitää käsitellä substraateilla. Taulukossa 13 on PMP:n toimittaja.

Taulukko 13. PMP:n toimittaja.

	Tuotemerkki	Jakelija
Mitsui	TPX	Telko

6.3.12 PP

Polypropeenia käytetään paljon lääketeollisuuden ruiskuvaluosissa ja lääkepakauksissa. Polypropeenit sopivat hyvin lääketeollisuuden käyttöön. Randomkopolymeerit ja homopolymeerit ovat läpinäkyviä, minkä ansiosta ne soveltuvat hyvin diagnostisiin sovelluksiin. PP:ä käytetään yleensä kertakäyttöisissä injektioruiskuissa, inhalaattoreissa, katetreissa ja pumpuissa, putkissa, letkuissa sekä pakkaussovelluksissa kuten laatikoissa, sulkimissa ja annostelulaitteissa.

PP:tä on saatavissa bioyhteensopivina ja joillakin lajeilla on EP:n ja USP VI:n hyväksyntöjä. Polypropeenille sopivat sterilointimenetelmät ovat gamma-, beta-, elektronisuihku, etyylioksidi- ja höyrysterilointi. Gammasterilointi voi kellastaa PP:tä, mutta on olemassa myös lajeja, jotka eivät kellastu liikaa. Taulukkoon 14 on kerätty PP:n toimittajia.

Taulukkoon 14. PP:n toimittajia

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
ExxonMobil	ExxonMobil	Telko
Borealis	Bormed	Nexeo
LyondellBasell	Purell	Ultrapolymers, Albis
Ineos	Eltex	Baritec
Total	Lumicene, Aceso	Telko
Sabir	Sabir PP	Distrupol, Erteco
Repsol	Repsol	Velox

6.3.13 PE

Polyeteeni (PE) on valtamuovi, joka on eniten valmistettu muovimateriaali maailmassa. PE:ä käytetään paljon pakkaussovelluksissa, pusseissa, letkuissa ja säiliöissä lääketieteellisissä käyttökohteissa. Uusimpien metalloseenikatalyyteillä valmistetut lajit ovat läpinäkyviä ja sitkeitä materiaaleja. Niitä voidaankin käyttää polyolefiinien iskulujitteina, parantamassa puhkaisulujuutta, tuotteen kemikaalien kestoja ja kalvojen saumauksen lujuuden parantamiseen. PE:n lämmönkesto on 50-60 °C mutta kemikaalien kesto on melko hyvä. Lujuus ja kemikaalien kesto määräytyvät molekyyliketjun rakenteesta ja tiheydestä. On saatavissa LD-PE, MD-PE, HD-PE ja LLDPE -lajeja. Bioyhteensopivia ja USP VI -vaatimuksen täyttäviä lajeja on saatavilla, joten terveydenhuollon sovelluksissa PE on hyvin yleinen. PE:lle sopivat sterilointimenetelmät ovat gamma-, beta-, elektronisuihku- ja etyylioksidisterilointi. Solunkasvatusalustoissa voidaan käyttää PE:tä, kunhan sen pinta on käsitelty ensin hydrofiiliseksi. Taulukkoon 15 on koottu suurimpia PE:n toimittajia.

Taulukko 13. PE:n toimittaja.

Valmistaja	Tuotemerkki	Jakelija
ExxonMobil	ExxonMobil	Telko
Borealis	Bormed	Nexeo
LyondellBasell	Purell	Ultrapolymers, Albis
Ineos	Eltex	Baritec
Sabic	PE PCG	Distrupol, Erteco
Repsol	Repsol healthcare	Velox
Total	Lumicene, Aceso	Telko
Versalis	Pharmalene	Ultrapolymers

7 Pohdinta

Työn tarkoituksena oli selvittää kasvatusalustoissa käytettäviä termoplastisia muovimateriaaleja, millä perusteella niitä valitaan ja miten niistä valmistetaan vaatimuksenmukaisia lääkintälaitteita. Muovit sopivat hyvin kasvatusalustoihin ja materiaaleja on runsaasti tarjolla. Suomessa on useita muovimateriaalien jakelijoita, jopa samalle materiaalille, joten palvelu toimii hyvin. Lainsäädäntö on juuri muuttumassa, joka selkeyttää lääkinnällisten laitteiden koko valmistusprosessia. Materiaalit eivät yksin varmista, että lopputuote täyttää sille asetetut vaatimukset. Tarvitaan koko valmistusketjun hallinta tuotekehityksestä, suunnittelusta ja materiaalien toimittamisesta valmistukseen asti sekä laitteen hyväksynnät osoittamaan vaatimuksenmukaisuus.

Tärkeintä on selvittää uuden sovelluksen vaatimukset ja mitä muovimateriaalilta odotetaan. Sen perusteella kannattaa keskustella toimittajien kanssa ja valita sopiva materiaali oikeaan paikkaan. Muovimateriaalien valinnassa kannattaa ottaa hyvissä ajoin yhteyttä toimittajiin, koska materiaalit kehittyvät nopeasti yhdessä lainsäädännön kanssa.

Aika ajoin kannattaa selvittää, mitä uusia vaatimuksia tai uudistuksia on alalle tulossa. Parannusta on tulossa hyväksyntöjen harmonisointiin eri maissa, joka helpottaa alan toimijoita. Euroopan farmakopean ja USP:n määräyksiä pitäisi selvittää syvemmin, joka selventäisi materiaalien valintaa esimerkiksi asetuksen 2017/746 mukaisiin IVD -lääkinnällisiin laitteisiin, jossa ei vaadita bioyhteensopiavuutta. Hyvissä ajoin varautuminen muutoksiin helpottaa niiden hallintaa. Esimerkkinä on polykarbonaatin kiistelty BPA -kemikaalin käytön rajoittaminen joissakin käyttökohteissa voi johtaa uuden korvaavan materiaalin etsimiseen.

Olen oppinut paljon prosessin aikana. Työ on opettanut minua tuntemaan paremmin terveydenhuollon muovituotteita valmistavien yritysten haasteita ja heidän edellyttämiään vaatimuksiaan. Voisi sanoa, että tässä tapauksessa tieto on lisännyt tuskaa. Uusissa projekteissa tulen varmasti hyödyntämään oppimaani ja asiakkaamme saavat korkealuokkaisempaa palvelua uusissa projekteissa.

LÄHTEET

1. Aikolon. Terveysteknologia esite. 2017. [Viitattu 21.07.2017]. Saatavissa: <https://www.aikolon.fi/toimialat/terveysteknologia> .
2. Total healthcare product range. 2017. [Viitattu 22.07.2017]. Saatavissa: http://www.polymers.total.com/sites/polymers/files/atoms/files/depliantmedical_aceso_vdeg6.pdf
3. Mark O'Neill & Heinonen. Tapaaminen 1.12.2017. Total product training 2017.
4. AEL. Tuotekehitys Medical Device & In Vitro Diagnostics –yrityksissä. 2017. [Viitattu 12.12.2017]. Saatavissa: <https://www.ael.fi/koulutustarjonta/tuotekehitys-medical-device-vitro-diagnostics-yrityksissa>
5. Tuli-Projekti. Biomateriaalin tuotteistaminen. 2008. [Viitattu 07.08.2017]. Saatavissa: <http://biomaterials.utu.fi/tuotteistaminen/johdanto>
6. Göring M. Bioyhteensopivuus – haaste lääkinnällisten laitteiden tuotekehityksessä. 2017. [Viitattu 1.12.2017]. Saatavissa: <http://blog.parker.com/fi/bioyhteensopivuus-%E2%80%93haaste-%C3%A4kinn%C3%A4llisten-laitteiden-tuotekehityksess%C3%A4>
7. Törmälä P. Yleiskatsaus terveydenhuollon laitteissa ja tarvikkeissa käytettyihin biomateriaaleihin. Lääkelaitoksen julkaisusarja. 2003. [Viitattu 10.08.2017]. Saatavissa: http://www.fimea.fi/documents/160140/753095/19686_Biomateriaalijulkaisut_1_Yleiskatsaus.pdf.pdf
8. Paleos A G, What is Biocompatibility? 2012. [Viitattu 11.08.2017] Saatavissa: <http://www.pittsburghplastics.com/assets/files/Biocompatibility%20for%20website.pdf>
9. ISO 10993 Standardi 2017. [Viitattu 11.08.2017]. Saatavissa: <https://www.iso.org/ics/11.100.20/x/>
10. ISO 10993-1. Biocompatibility Testing. TÜV SÜD Product Service. 2018. [Viitattu 13.12.2017]. Saatavissa: <https://www.tuv-sud.com/industries/healthcare-medical-device/testing-assessment/testing-of-non-active-medical-devices/iso-10993-1-biological-evaluation-and-biocompatibility-testing-of-medical-devices>
11. ISO Standardi. 2017. [Viitattu 11.08.2017]. Saatavissa: <https://www.iso.org/ics/11.100.20/x/>
12. Fimea. Euroopan farmakopean 2017. [Viitattu 22.08.2017]. Saatavissa: http://www.fimea.fi/valvonta/lait_ohjeet/euroopan_farmakopea
13. FDA. U.S Food and Drug Administration CFR title 21. 2017. [Viitattu 12.09.2017]. Saatavissa: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?CFRPart=820>
14. EU asetus 1935/2004. Euroopassa elintarvikkeiden kanssa kontaktissa olevien materiaalien vaatimuksia. [Viitattu 10.09.2017]. Saatavissa: http://www.kullervo.net/wp-content/uploads/2015/03/1935_2004.pdf
15. Evira. Hyvät tuotantotavat GMP. 2017. [Viitattu 12.09.2017]. Saatavissa: <https://www.evira.fi/elintarvikkeet/valmistus-ja-myynti/kontaktimateriaalit/hyvat-tuotantotavat-gmp/>

16. Muncke J. Food Packaging Contaminants. Teoksessa Motarjemi. J. Moy, G. & Todd, E. (editors) Encyclopedia of Food Safety (Vol 1). Elsevier. 2014. 430-437 s. ISBN 978-012-378612-8
17. USP Standardi. In Vitro <87>. 2015. [Viitattu 19.09 .2017]. Saatavissa: http://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/iras/gc-87-biological-reactivity.pdf
18. USP Standardi. Biological Test In Vivo <88>. 2012. [Viitattu 12.09 .2017]. Saatavissa: [http://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp35/PDF/0094-0098%20\[88\]%20Biological%20Reactivity%20Tests,%20In%20Vivo.pdf](http://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp35/PDF/0094-0098%20[88]%20Biological%20Reactivity%20Tests,%20In%20Vivo.pdf)
19. Adrew Gottfried. USP Class Testing. 2014. [Viitattu 12.09.2017]. Saatavissa: <https://www.namsa.com/toxicology/usp-class-testing/>
20. Niemi, Korhonen & Virtanen. Solujen molekyylibiologia. Porvoo 1994. 40 s. ISBN 951-35-5685-9
21. Solunetti 2010. Soluviljely.2017. [Viitattu 22.09 .2017]. Saatavissa: http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/soluviljely_1/
22. Solunetti 2010. Soluviljely, 2017. [Viitattu 11.09 .2017]. Saatavissa: http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/soluviljely_1/
23. Freshney I, Culture of animal cells. 2016. Englanti. 73-74 s. ISBN 9781118873656
24. Life Technologies.Culture enviroment Invitrogen. 2012. [Viitattu 12.12 .2017]. 2,6,11,20 s. Saatavissa; http://science.lecture.ub.ac.id/files/2012/04/Cell-Culture-Basics_US.pdf
25. Life Technologies. Culture enviroment Invitrogen. 2012. 20 s. [Viitattu 1.11 .2017]. Saatavissa; http://science.lecture.ub.ac.id/files/2012/04/Cell-Culture-Basics_US.pdf
26. Ryan JA. Evolution of cell culture surfaces. 2008. 1 s. [Viitattu 10.11 .2017]. Saatavissa: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biofiles/evolution-of-cell.html>
27. Solunetti 2010. Soluviljely. 2017. [Viitattu 12.10 .2017]. Saatavissa: http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/aseptinen_tyoskentely/2/
28. Thermo Fisher. Nunclon stem cell devices. 2017. [Viitattu 22.11 .2017]. Saatavissa: <https://www.fishersci.com/shop/products/nunclon-spheradishes/p-6096787>
29. Gilbert et al. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture Science. 2010. [Viitattu 12.12 .2017]. Saatavissa: https://www.researchgate.net/publication/45278539_Substrate_Elasticity_Regulates_Skeletal_Muscle_Stem_Cell_Self-Renewal_in_Culture
30. Valvira määräys. CE-merkinnän käyttö terveydenhuollon laitteessa ja tarvikkeessa. 2011. Saatavissa: www.finlex.fi/data/normit/39647/Maarays_2_2011.pdf
31. Lehmann H. Blog. Does your clinic conform with EU safety directives? Our products do. 2015. [Viitattu 12.12 .2017]. Saatavissa: <http://blog.vitro-life.com/togetheralltheway/blog/does-your-clinic-conform-with-eu-safety-directives-our-products-do>
32. Ståhlbeg T. Terveydenhuollon laitteiden lakisääteiset määräykset kansainvälisillä markkinoilla. 2015. 56 s. [Viitattu 13.12 .2017]. Saatavissa:

- https://www.businessfinland.fi/globalassets/julkaisut/terveydenhuollon_laitteiden_lakisaateiset_maaraykset_opas.pdf)
33. Mummery et al. Stem Cells. 2014. 173-177 s. ISBN: 9780124115514
 34. Sariola et al. Kehitysbiologia. Jyväskylä 2003. 50 s. ISBN: 951-656-099-7
 35. Marsic B. Blog. Choosing the Right Substrate. 2016. Saatavissa: <https://sciencellonline.com/blog/choosing-the-right-substrate/>
 36. Sigma-Aldrich. Stem Cell culture. 2018. [Viitattu 15.12.2017]. Saatavissa: <https://www.sigmaaldrich.com/life-science/stem-cell-biology.html>
 37. Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista 629/2010. Suomen säädöskokoelma. Helsinki: Oikeusministeriö. 2018. [Viitattu 9.4.2018] Saatavissa: <http://www.edilex.fi/saaduskokoelma/20100085.pdf> ..
 38. Sippola A. Tuotantolaitteiden kvalifiointi ja prosessin validointi GMP-tuotantoa varten. Diplomityö. Lappeenrannan teknillinen yliopisto. Kemiantekniikan osasto. Teknillisen kemian laboratorio. Lappeenranta. 2004, S 1.
 39. Crtoy. Mikä on Puhdastila. Esite. 2017. [Viitattu 19.12.2017]. Saatavissa: <http://crtoy.com/cleanroom/puhdastilat/>
 40. SFS Standardi. Puhdastila ja puhtaat alueet., 2015. [Viitattu 20.12.2017]. Saatavissa: <https://sales.sfs.fi/fi/index/tuotteet/SFS/CENISO/ID2/1/417127.html.stx>
 41. Moldenhauer J. Understanding Cleanroom Classifications. 2014. [Viitattu 10.12.2017]. Saatavissa: <https://www.cemaq.us/article/2014/03/understanding-cleanroom-classifications>
 42. Brunfeld K. Puhdastilatutuotannon rakennuksen kehitys. Metropolia AMK. Rakennustekniikka, 2016. S 8.
 43. Brunfeld K. Puhdastilatutuotannon rakennuksen kehitys. Metropolia AMK. Rakennustekniikka. 2016. S 7.
 44. SGS. Uudistunut ISO 13485:2016 standardi. 2016. [Viitattu 21.12.2017]. Saatavissa: <http://www.sgs.fi/fi-fi/training-schedule/2017/10/revised-iso-13485-standard>)
 45. EU komissio. GMP. 2012. Saatavissa: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/gmp/2012_01_20_gmp_cp_en.pdf
 46. Bureauveritas. Siirtymäaika päivitettyyn ISO 13485:2016 standardiin. 2017. Saatavissa: <http://www.bureauveritas.fi/home/news/latest-news/2017+10+siirtyma aika+paivitettyyn+iso+13485+2016+standardiin>
 47. Euroopan Kemikaalivirasto. Jakelija. 2018. [Viitattu 22.12.2017]. Saatavissa: <https://echa.europa.eu/fi/home>
 48. Fimea. Sterilointi perusterveydenhuollossa. 2017. [Viitattu 23.12.2017]. Saatavissa: http://www.fimea.fi/documents/160140/753095/19718_julkaisut_Piensterilointi_Info1_05_verkko.pdf.pdf
 49. Antamaniemi R. Värimuutosten hallinta sairaalapakkauksissa. Lahden AMK. Muovitekniikan koulutusohjelma. 2008. S12.

