

POLITECNICO DI TORINO

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Corso di Laurea Magistrale in "Ingegneria Biomedica"

Tesi di Laurea Magistrale

Sviluppo e validazione della macchina
per test di contrazione pericardio
(Shrinkage Test) per valvole cardiache
biologiche



Relatore accademico:

Prof.ssa Cristina Bignardi

Tutor Aziendale:

Ing. Stefano Magnetti

Candidata:

Miriana Pepe

Anno Accademico 2017/2018

*Se una scrivania in disordine
è segno di una mente disordinata
di cosa, allora, è segno
una scrivania vuota?*

[A. Einstein]

Ringraziamenti

Vorrei prima di tutto ringraziare la prof.ssa Cristina Bignardi per avermi consentito di svolgere questo lavoro di tesi presso LivaNova; ci tengo a ringraziare il mio tutor aziendale Stefano Magnetti per avermi seguita e guidata in questi mesi, durante tutta la realizzazione del progetto ma soprattutto per avermi insegnato cosa c'è oltre l'università, per avermi fatto capire che nella vita lavorativa si può imparare ancora molto.

Un ringraziamento speciale va alla mia famiglia, mamma, papà e Giorgia, senza di voi tutto questo non sarebbe stato possibile, vi ringrazio per avermi consentito di intraprendere l'esperienza universitaria, per aver avuto fiducia in me e nelle mie capacità, per avermi sempre sostenuta emotivamente ed essere stati sempre presenti nonostante la distanza. Vi voglio immensamente bene.

Indice

1	Il muscolo cardiaco	3
1.1	Fisiologia del miocardio	4
1.2	Valvole cardiache	5
1.2.1	Caratteristiche	6
1.2.2	Ciclo cardiaco	7
1.2.3	Patologie valvolari	9
2	Protesi valvolari cardiache	13
2.1	Protesi valvolari meccaniche	14
2.1.1	CVD Chemical Vapour Deposition	17
2.2	Protesi valvolari biologiche	19
2.2.1	Valvola biologica porcina	20
2.2.2	Valvola pericardica	21
2.2.3	Trattamento con glutaraldeide	21
2.2.4	PVD Phisycal Vapour Deposition	22
3	Valvola Perceval	25
3.1	Trattamenti	27
3.2	Controllo qualità	29
4	Shrinkage Test	35
4.1	Scopo della macchina	35
4.2	Precedente metodo di analisi	36
4.3	Descrizione dei componenti della macchina	37
4.4	Funzionamento	41
4.5	Diagrammi di flusso	47

5	Documentazione	57
5.1	URS	57
5.2	PFMEA	59
5.3	Process Validation	61
5.3.1	IQ	61
5.3.2	OQ	63
5.3.3	PQ	65
5.4	Procedura operativa	66
6	Validazione	69
6.1	Esecuzione dell'IQ	71
6.2	Esecuzione dell'IQ-OQ Software	73
6.3	Esecuzione dell'OQ Hardware	77
6.4	Esecuzione del PQ	78
	Bibliografia	83

Elenco delle figure

1.1	Circolazione sanguigna attraverso il sistema cardiovascolare . . .	5
1.2	Valvole cardiache	7
1.3	Ciclo cardiaco	8
1.4	In alto normale apertura - chiusura. In basso a sinistra valvola stenotica. In basso a destra valvola insufficiente.	10
2.1	Protesi valvolare a palla	15
2.2	Protesi valvolare a disco oscillante	16
2.3	Protesi valvolare a due emidischi	17
2.4	Reattore deposizione carbonio pirolitico	19
2.5	Valvola biologica porcina	21
2.6	Valvola biologica pericardica	21
2.7	Camera deposizione carbonio pirolitico	23
3.1	Valvola di tessuto	26
3.2	Armatura auto-ancorante	26
3.3	Guiding stures	27
3.4	Perceval ballooning	27
3.5	Processo di neutralizzazione	28
3.6	Storage	28
3.7	In-vitro Tests	29
4.1	Shrinkage Test attualmente in uso	36
4.2	Camera di test attualmente in uso	37
4.3	New Shrinkage Test equipment	38
4.4	Camera di Test	39

4.5	Sistemi di misura laser	39
4.6	Log in e menù generale	41
4.7	Pagina di Calibrazione	42
4.8	Manutenzione - Sinottico	43
4.9	Posizionamento campione	44
4.10	Schermata Test	45
4.11	Inserimento parametri	46
4.12	Finestra riassuntiva	47
5.1	Struttura ed esmpio PFMEA	60

Introduzione

Argomento della tesi

La presente tesi di laurea magistrale è stata sviluppata in una delle aziende leader nel settore biomedicale: LivaNova PLC, ex Sorin Group Spa.

Il lavoro consisteva nello sviluppo, collaudo e validazione della macchina per *Shrinkage Test*, si tratta di una nuova versione della macchina già in uso presso la sede di Saluggia (VC) necessaria per valutare l'efficacia dei trattamenti con Glutaraldeide subiti dal pericardio bovino con cui si realizzano le protesi valvolari cardiache biologiche.

La nuova macchina consente di lavorare in maggiore sicurezza, in modo più efficiente utilizzando metodi e sensoristica all'avanguardia, permette di testare otto campioni contemporaneamente, l'operatore interviene solo nella realizzazione e nel posizionamento dei campioni, la fase di test e l'analisi dei risultati vengono effettuati automaticamente dalla macchina.

Il lavoro di tesi ha seguito tutte le fasi di sviluppo della macchina: creazione e collaudo dei componenti meccanici e del software, valutazione dei rischi, realizzazione dei protocolli tecnici e processo di validazione del sistema secondo i test e le procedure aziendali in modo da poter valutare le performance, verificare la ripetibilità e riproducibilità dei risultati.

Organizzazione della tesi

Nel primo capitolo è presente una breve introduzione sul muscolo cardiaco, il funzionamento delle valvole cardiache e viene data una panoramica delle principali patologie di cui sono affette. Nel secondo capitolo vengono introdotte le protesi valvolari cardiache, viene brevemente raccontata l'evoluzione storica delle valvole meccaniche e viene data particolare attenzione a quelle di origine biologica.

Nel terzo capitolo è presentata la valvola Perceval, costituita di tessuto pericardico bovino, esso viene testato con la macchina per *Shrinkage Test* oggetto della presente tesi di cui, invece, si parla nel capitolo quarto in cui viene descritto il precedente metodo di analisi, quello attuale e viene spiegato e mostrato tutto il flusso di lavoro della macchina.

Il lavoro di tesi ha riguardato anche la creazione di tutta la documentazione necessaria per poter realizzare, validare e mettere in funzione la macchina, i documenti che sono stati creati vengono descritti nel quinto capitolo. Infine sono state eseguite e completate tutte le fasi di collaudo e validazione effettuate in conformità alle procedure aziendali e sono esposte nel sesto capitolo. Solo l'ultima fase di validazione (performance qualification) non è stato possibile eseguirla a causa della chiusura aziendale estiva.

CAPITOLO1

Il muscolo cardiaco

Il cuore è un organo muscolare cavo che costituisce il centro motore dell'apparato circolatorio e propulsore del sangue e della linfa, è formato da un tessuto detto *miocardio* ed è rivestito da una membrana detta *pericardio*. È posto al centro della cavità toracica precisamente nel mediastino anteriore, tra i due polmoni, dietro lo sterno e le cartilagini costali e davanti alla colonna vertebrale da cui è separato da esofago ed aorta; è appoggiato al diaframma che lo separa dai visceri sottostanti. Ha la forma di un tronco di cono ad asse obliquo rispetto al piano sagittale.[2]

Il cuore è un muscolo striato, pompa circa 5/6 litri di sangue al minuto nel sistema circolatorio, contraendosi genera la forza necessaria a spingere il sangue nei vasi sanguigni; è formato da quattro camere:

- gli **atri** sono le due camere superiori che ricevono il sangue dalle vene polmonari a sinistra e dalle vene cave a destra.
- i **ventricoli** sono le due camere inferiori che ricevono il sangue dagli atri e generano la pressione necessaria a spingerlo nell'arteria polmonare (destra) e aorta (sinistra).

Il cuore può quindi essere considerato diviso in *cuore sinistro* e *cuore destro*. Gli atri e ventricoli delle due metà sono separati da una parete detta *setto* che evita che il sangue del cuore sinistro e del cuore destro si mescolino. La porzione di setto che separa gli atri è detto *setto interatriale*, quella che separa i ventricoli è chiamata *setto interventricolare*.

Il cuore possiede un *apice* collocato nel restringimento del polo inferiore ed una *base* collocato nello slargamento del polo superiore.[1]

1.1 Fisiologia del miocardio

Il sistema circolatorio consiste di due di due circuiti:[1]

- **circolo polmonare** costituito dall'insieme dei vasi polmonari e da quelli che connettono i polmoni al cuore; pertanto riceve il sangue dall'atrio destro.
- **circolo sistemico** che contiene tutti i vasi diretti alle restanti parti del cuore; pertanto riceve il sangue dall'atrio sinistro.

Quando il sangue si muove nel sistema cardiocircolatorio si muove in maniera alternata attraverso i due circoli tornando al cuore dopo ogni ciclo (Figura 1.1). Di seguito è riportato il flusso ematico:

1. Il ventricolo sinistro tramite la valvola aortica pompa il sangue ossigenato nell'*aorta* le cui diramazioni trasportano il sangue fino ai letti capillari di tutti gli organi e i tessuti irrorati dal circolo sistemico.
2. Il sangue viene deossigenato nei tessuti periferici e poi attraverso le vene cave torna in atrio destro. La *vena cava superiore* porta il sangue proveniente dalle parti del corpo al di sopra del diaframma, mentre la *vena cava inferiore* provvede a trasportare il sangue dalle parti sottostanti il diaframma.
3. Dall'atrio destro il sangue passa attraverso la valvola tricuspide nel ventricolo destro.
4. Il ventricolo destro tramite la valvola polmonare pompa il sangue nel tronco polmonare che si dirama quasi subito nelle *arterie polmonari* che trasportano il sangue deossigenato ai polmoni.
5. Nei polmoni il sangue viene ossigenato e poi attraverso le *vene polmonari* passa in atrio sinistro.

1.2. VALVOLE CARDIACHE

6. Dall'atrio sinistro il sangue passa attraverso la valvola bicuspide nel ventricolo sinistro e il ciclo si ripete.

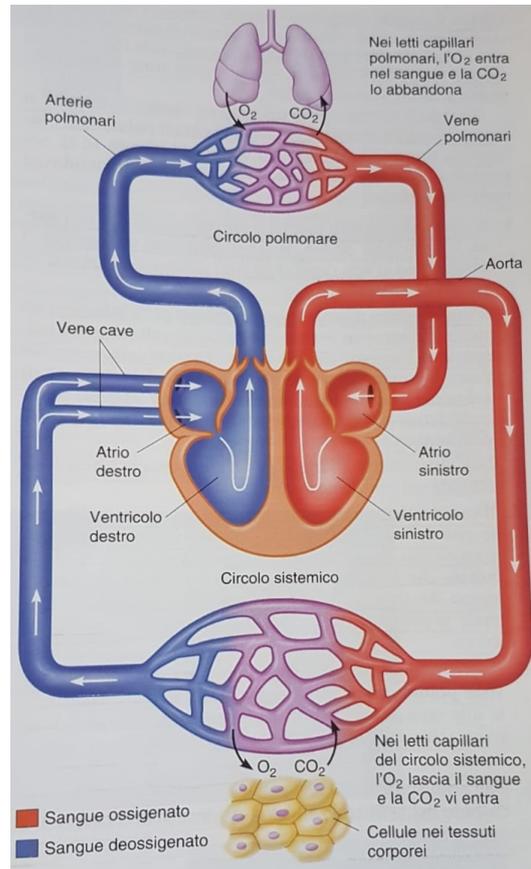


Figura 1.1: Circolazione sanguigna attraverso il sistema cardiovascolare

1.2 Valvole cardiache

Le valvole cardiache sono strutture anatomiche che regolano il flusso di sangue all'interno delle camere del cuore, in quanto esse sono impegnate nelle fasi di contrazione e rilasciamento che si ripetono e che costituiscono il *ciclo cardiaco* in cui prima si contraggono gli atri e successivamente i ventricoli. Durante il ciclo cardiaco le pressioni nelle quattro camere variano e sono proprio i gradienti di pressione a spingere il sangue dagli atri nei ventricoli e dai

ventricoli nelle arterie a valle. È fondamentale che il flusso sanguigno avvenga in un'unica direzione determinata dal gradiente pressorio ed è a questa funzione che assolvono le quattro valvole cardiache (Figura 1.2):[1]

- **Valvole atrioventricolari** che permettono al sangue di fluire solo dall'atrio al ventricolo in risposta alle variazioni cicliche della pressione che avvengono ad ogni battito cardiaco. Quando la pressione atriale è più elevata della ventricolare le valvole sono aperte; quando la pressione ventricolare è più elevata di quella atriale le valvole sono chiuse. Si distinguono in:
 - **Valvola bicuspid** (o **mitralica**) quella di sinistra, costituita da due lembi, o *cuspidi* di tessuto connettivo.
 - **Valvola tricuspide** quella di destra, costituita da tre cuspidi.
- **Valvole semilunari** sono poste tra i ventricoli e le arterie, sono aperte quando la pressione ventricolare supera quella arteriosa a valle, ovvero quando il ventricolo è contratto. Quando i ventricoli si rilasciano e la loro pressione diventa più bassa di quella arteriosa le valvole si chiudono. Si distinguono in:
 - **Valvola aortica** localizzata tra il ventricolo sinistro e l'aorta.
 - **Valvola polmonare** tra ventricolo destro e tronco polmonare.

Le valvole devono garantire l'unidirezionalità del flusso ma nella realtà si hanno un po' di reflussi perché con l'avanzare dell'età i lembi valvolari si modificano e le loro proprietà meccaniche cambiano.

1.2.1 Caratteristiche

Le valvole cardiache sono appendici di tessuto per la maggior parte fibroso, rivestite da endocardio. Sono caratterizzate da una faccia assiale, una parietale, un margine libero ed uno aderente ovvero quello a contatto con l'orifizio. I margini liberi dei lembi valvolari sono connessi ai muscoli papillari tramite le *corde tendinee*, questo collegamento consente la coaptazione dei lembi valvolari durante la sistole.[6]

1.2. VALVOLE CARDIACHE

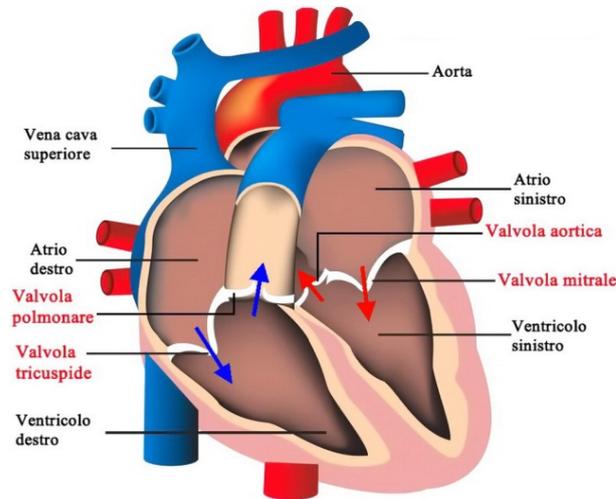


Figura 1.2: Valvole cardiache

La valvola tricuspidale ha forma ovale, regola il passaggio di sangue tra atrio destro e ventricolo destro; la valvola mitrale è l'unica ad avere due lembi invece che tre, inoltre per massimizzare il flusso di sangue cambia forma: passa da ovale quando è chiusa a circolare quando è aperta.

Le valvole semilunari hanno entrambe tre cuspidi in posizione sfalsata per impedire il reflusso di sangue e hanno un ispessimento fibroso per rendere più completa la chiusura della valvola.[6]

Le corde tendinee sono filamenti di tessuto connettivo che si estendono dai margini delle cuspidi fino ai *muscoli papillari* che protrudono dalla parete ventricolare. Durante la contrazione ventricolare anche i muscoli papillari si contraggono esercitando una tensione sulle corde tendinee le quali tirano verso il basso le cuspidi ventricolari chiudendole completamente ed opponendosi alla forza generata dalla pressione ventricolare.

1.2.2 Ciclo cardiaco

Il ciclo cardiaco comprende tutti gli eventi associati con il flusso del sangue attraverso il cuore durante un singolo battito cardiaco. Può essere diviso in due fasi principali: la **sistole** ovvero la contrazione ventricolare e la **diastole** cioè il rilasciamento ventricolare (Figura 1.3).

1.2. VALVOLE CARDIACHE

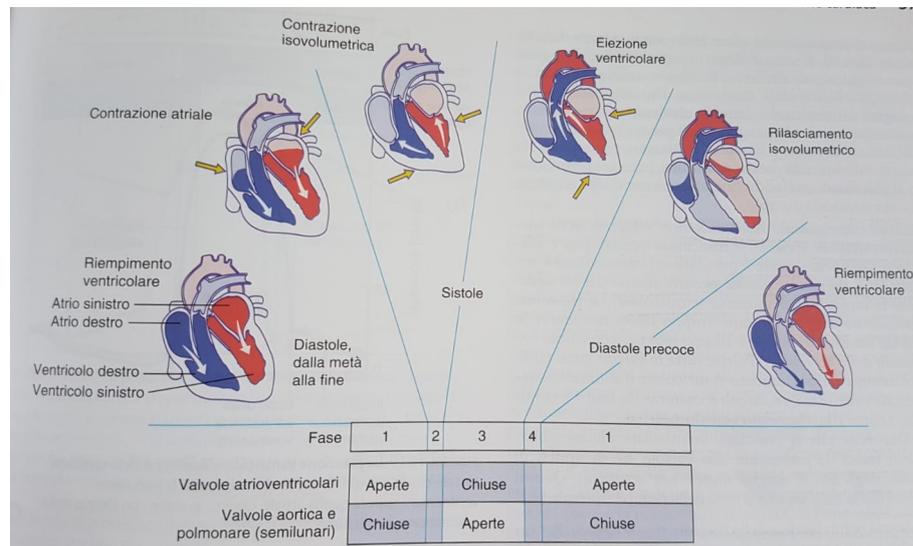


Figura 1.3: Ciclo cardiaco

1. *Fase del riempimento ventricolare:* durante la seconda metà della diastole il sangue grazie alla propria pressione torna al cuore attraverso le vene sistemiche e polmonari, entra negli atri rilasciati, passa attraverso le valvole atrioventricolari e riempie i ventricoli; la pressione nelle vene è bassa ma sufficientemente alta da spingere il sangue nel cuore (*ritorno venoso*). Durante il riempimento le valvole semilunari sono chiuse perché la pressione ventricolare è più bassa rispetto a quella dell'aorta e delle arterie polmonari. Alla fine della diastole gli atri si contraggono spingendo ulteriore sangue nei ventricoli. Questa fase è detta *riempimento ventricolare*. Dopo poco gli atri si rilasciano ed inizia la sistole.
2. *Fase della contrazione isovolumetrica:* all'inizio della sistole i ventricoli iniziano a contrarsi dunque la pressione al loro interno aumenta e molto rapidamente supera quella atriale e le valvole atrioventricolari si chiudono. Le valvole semilunari continuano a restare chiuse perché la pressione ventricolare non è ancora abbastanza elevata, pertanto in questa fase il volume di sangue interno ai ventricoli resta costante. Tale fase termina quando la pressione ventricolare diventa abbastanza alta da forzare l'apertura delle valvole semilunari.

3. *Fase dell'eiezione ventricolare*: nella restante parte della sistole il sangue viene pompato nell'aorta e nelle arterie polmonari attraverso le valvole semilunari aperte e il volume ventricolare diminuisce. Durante l'efflusso definito *eiezione ventricolare* la pressione ventricolare raggiunge il picco massimo e inizia a diminuire, quando diventa inferiore alla pressione aortica, le valvole semilunari si chiudono mettendo fine all'eiezione e dando inizio alla diastole.
4. *Fase di rilasciamento isovolumetrico*: all'inizio della diastole il ventricolo è rilasciato e la pressione ventricolare è bassa per tenere le valvole semilunari chiuse e nel contempo è ancora troppo alta per tenere anche la valvole atrioventricolari chiuse. Dunque anche in questa fase il volume di sangue rimasto nei ventricoli è costante.
Una volta che la pressione ventricolare diventa abbastanza bassa da consentire alle valvole atrioventricolari di aprirsi, il sangue dagli atri fluisce nei ventricoli e il ciclo riprende.

La durata della sistole e della diastole non è uguale, la maggior parte del ciclo cardiaco è spesa nella diastole per dare al cuore il tempo necessario a riempirsi di sangue per garantire l'efficienza della pompa cardiaca.[1]

1.2.3 Patologie valvolari

Caratteristica principale delle valvole è il fatto di garantire l'*unidirezionalità* del flusso inoltre assicurano che la perfusione dell'intero organismo avvenga minimizzando l'energia necessaria. Se non funzionano bene parte del sangue torna indietro (*reflusso*) e gli organi/tessuti sono poco perfusi di conseguenza il cuore deve aumentare il suo carico di lavoro e a lungo andare diventa ipertrofico: essendo un muscolo tende ad ingrossarsi e non riesce più a contrarsi garantendo la corretta frazione d'eiezione.

Le patologie valvolari sono malattie del cuore che coinvolgono le quattro valvole cardiache, possono essere congenite, cioè presenti fin dalla nascita, o acquisite, quando compaiono successivamente. Nella maggior parte dei casi restano asintomatiche per anni, nei casi più acuti causano l'insorgenza di aritmie o irregolarità del battito cardiaco.[3]

Le cardiopatie valvolari sono essenzialmente caratterizzate da (Figure 1.4):

1.2. VALVOLE CARDIACHE

- **Stenosi valvolari:** causano un aumento di pressione a monte della valvola malata perché questa si apre in maniera incompleta. Può essere dovuto al fatto che con l'avanzare dell'età il tessuto valvolare può degenerare e calcificare.
- **Insufficienze valvolari:** la valvola non si chiude perfettamente causando reflusso di sangue nella camera cardiaca a valle della valvola. Può essere dovuta a infarto, ipertensione arteriosa o scompenso cardiaco che possono danneggiare il cuore e provocare una sua progressiva dilatazione che a sua volta dilata e distorce le valvole impedendo la loro corretta chiusura.

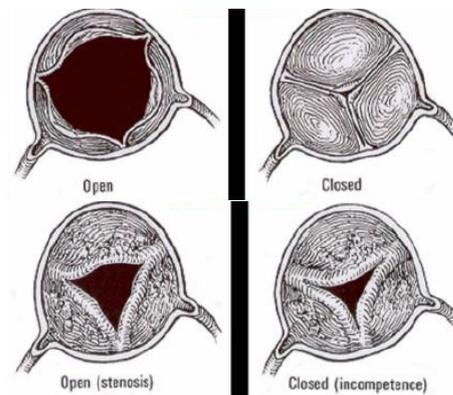


Figura 1.4: In alto normale apertura - chiusura. In basso a sinistra valvola stenotica. In basso a destra valvola insufficiente.

Esistono diverse tipologie di cardiopatie valvolari:

- **Stenosi mitralica:** ostacolo al passaggio di sangue dall'atrio sinistro al ventricolo sinistro.
- **Stenosi aortica:** tale restringimento determina un gradiente pressorio che impone al ventricolo sinistro di sviluppare maggiore pressione in sistole per mantenere una gittata cardiaca adeguata alle richieste metaboliche. Con il progredire della patologia si sviluppa ipertrofia concentrica come meccanismo di compenso.
- **Stenosi della tricuspide:** ostacolo al passaggio di sangue dall'atrio destro al ventricolo destro.

1.2. VALVOLE CARDIACHE

- Stenosi polmonare: ostacolo al passaggio di sangue dal ventricolo destro al tronco polmonare.
- Insufficienza mitralica: si manifesta reflusso di sangue dal ventricolo sinistro all'atrio sinistro.
- Insufficienza aortica: si ha reflusso di sangue dall'aorta al ventricolo sinistro in diastole. Per mantenere un'adeguata frazione d'eiezione il ventricolo va incontro ad ipertrofia eccentrica; in seguito subisce ischemia e scompenso.
- Insufficienza tricuspидale: reflusso di sangue dal ventricolo destro all'atrio destro durante la sistole.
- Insufficienza polmonare: reflusso dal tronco polmonare al ventricolo destro.[4]
- Sindrome del prolasso valvolare mitralico: quando il ventricolo sinistro si contrae aumentata la pressione al suo interno esercitando una forza verso l'alto contro la valvola. A causa di questa forza esiste un potenziale pericolo che una o più cuspidi valvolari possano ribaltarsi nell'atrio. In tal caso i margini delle cuspidi non sono più in contatto per tutta la loro lunghezza e la valvola non è più in grado di chiudersi ermeticamente, ciò può essere dovuto alla rottura delle corde tendinee.[1]

Le patologie valvolari più frequenti sono la stenosi aortica e l'insufficienza mitralica perché sottoposte ad un regime pressorio più elevato e ad un maggiore stress meccanico. Le malattie delle valvole del settore destro del cuore (tricuspide e polmonare) sono rare e in genere dovute a problemi congeniti. Le patologie valvolari congenite sono dovute ad alterazioni nello sviluppo embrionale e spesso sono associate ad altre anomalie.

Le patologie valvolari acquisite possono essere dovute a:

- degenerazione delle strutture valvolari (legate all'età)
- infezioni (endocarditi)

1.2. VALVOLE CARDIACHE

- febbre reumatica che causa un inspessimento del tessuto valvolare
- ischemie o patologie del muscolo cardiaco con dilatazione del cuore o compromissione della sua funzione contrattile
- traumi (caso raro)

Tranne nei rari casi acuti (trauma, rottura valvolare, infezione con perforazione delle valvole, infarto), l'evoluzione delle patologie valvolari è lenta e la complicanza finale di queste patologie non trattate è lo scompenso cardiaco. Non esistono farmaci in grado di curare le malattie delle valvole cardiache ma solo per trattare e tenere sotto controllo alcuni sintomi. La terapia è chirurgica e consiste nel riparare o nel sostituire le valvole mal funzionanti con protesi valvolari meccaniche o biologiche.[3]

CAPITOLO2

Protesi valvolari cardiache

La protesi valvolare cardiaca ha il compito di riprodurre il corretto funzionamento della valvola cardiaca naturale, pertanto la protesi ideale dovrebbe:

- Aprirsi e chiudersi passivamente e rapidamente (secondo il battito cardiaco)
- Essere emocompatibile
- Non produrre perdite di pressione
- Non consentire flussi retrogradi
- Non degradare in vivo
- Non produrre emolisi o trombosi
- Essere radiopaca per poterla vedere in radiografia
- Non alterare i peritessuti
- Essere disponibile in molte taglie
- Essere facile da impiantare

Sulla base dei materiali utilizzati si distinguono due diverse famiglie di protesi valvolari:

2.1. PROTESI VALVOLARI MECCANICHE

- Protesi valvolari meccaniche
- Protesi valvolari biologiche

Entrambe riescono a soddisfare alcuni dei requisiti sopraelencati; le valvole biologiche hanno basso rischio tromboembolico e non richiedono una terapia anticoagulante ma c'è un più alto rischio che il tessuto biologico degradi portando al fallimento della protesi. Le valvole meccaniche invece non essendo costituite di materiale biologico hanno una durata superiore all'aspettativa di vita del paziente ma necessitano di terapia anticoagulante a vita. La scelta su quale valvola impiantare è fatta dal chirurgo che sulla base dell'età, delle condizioni fisiche, dello stile di vita e delle condizioni di salute del paziente valuta rischi e benefici dei due tipi di protesi e fa la scelta migliore.

2.1 Protesi valvolari meccaniche

Le protesi valvolari meccaniche sono realizzate con materiali di sintesi, pertanto necessitano di trattamento farmacologico a vita con anticoagulanti pur essendo ricoperte di carbonio pirolitico che le rende altamente emocompatibili. Non è dunque indicata per bambini e donne in età fertile.

Sono costituite di tre componenti:

- Occlusore: è la parte mobile della valvola,
- Housing: è l'alloggiamento dell'occlusore e ne limita il movimento,
- Anello di sutura: consente al chirurgo di suturare la valvola ai tessuti cardiaci.

Nel corso degli anni sono stati progettati numerosi modelli di protesi valvolari meccaniche, che differiscono per geometria e materiali utilizzati, di seguito è riportata una breve panoramica dell'evoluzione storica di tali protesi:

- **Ball valves:** il primo design prevedeva un occlusore sferico mobile tenuto in sede da una gabbia in acciaio inossidabile saldata (Figura 2.1). L'otturatore è in Nylon ricoperto di silicone. Questo design presenta numerosi svantaggi:

2.1. PROTESI VALVOLARI MECCANICHE

- Blocca completamente il flusso centralizzato (come quello fisiologico) e genera elevati fenomeni di turbolenza.
- La collisione tra gabbia e occlusore provoca il danneggiamento delle cellule del sangue: emolisi.
- I materiali con cui è costruita stimolano trombosi e formazione di coaguli.
- Causa perdite di pressione.
- Altera i peritessuti a causa delle sue dimensioni.
- Non è veloce nell'apertura/chiusura a causa delle dimensioni e della massa della palla.



Figura 2.1: Protesi valvolare a palla

Una sua evoluzione è la **Starr-Edwards**: Palla in silicone con solfato di bario, gabbia in stellite 21 (lega Co-Cr-Mo-Ni), anello di sutura in Teflon (Politetrafluoroetilene, PTFE) e rivestito di polipropilene. Ulteriori problemi:

- L'occlusore assorbe lipidi.
 - La palla può aderire all'orecchio.
- **Valvola a disco oscillante**: usa un occlusore a disco inclinato per imitare meglio il flusso naturale (Figura 2.2). Le prime avevano il disco tenuto in sede da due archetti saldati all'anello in stellite. Adesso si utilizza oltre alla stellite anche il titanio, ma non più con saldatura

2.1. PROTESI VALVOLARI MECCANICHE

per ridurre i casi di rottura. Il disco è realizzato con anima in grafite sulla quale viene depositato il carbonio pirolitico. L'anello di sutura è realizzato in Teflon o Dacron.

- La fluidodinamica migliora, consente un flusso più centrale ma ancora non previene il reflusso.
- Elevata antitrombogenicità e resistenza all'usura grazie al carbonio pirolitico.
- Continua ad esserci un po' di danneggiamento alle cellule del sangue.
- Riduce trombosi e infezioni ma non li elimina completamente.
- Fa rumore a causa del rivestimento in carbonio pirolitico.

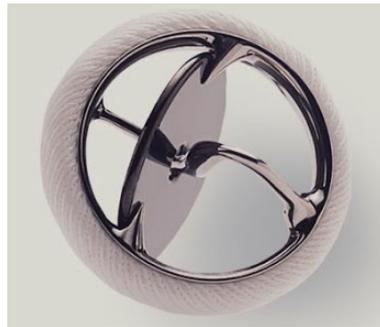


Figura 2.2: Protesi valvolare a disco oscillante

- **Bileaflet Disc Heart Valves:** è costituita di due leaflets semicircolari alloggiati in cerniere (Figura 2.3).
 - I leaflets e la flangia in carbone consentono alta forza ed eccellente biocompatibilità.
 - Consentono un flusso centrale, quasi laminare grazie all'apertura massimale degli emischi.
 - Consentono un po' di flusso retrogrado in quanto i leaflets non possono chiudersi completamente per prevenirne la rottura.
 - Fa rumore a causa del rivestimento in carbonio pirolitico.

2.1. PROTESI VALVOLARI MECCANICHE



Figura 2.3: Protesi valvolare a due emidischi

Attualmente i problemi e le complicazioni più ricorrenti con le valvole meccaniche sono:

- Emorragie causate dagli anticoagulanti
- Trombosi e trombo-embolismo
- Emolisi
- Rumore (problema sociale)
- Rottura della valvola a causa di fatica dei materiali o loro modificazioni chimiche.

2.1.1 CVD Chemical Vapour Deposition

Per quanto visto, le valvole meccaniche sono interamente rivestite di carbonio pirolitico. Molti materiali carboniosi sono inerti chimicamente, hanno ottima biocompatibilità e scarsa trombogenicità per questo risultano essere altamente emocompatibili, infatti il carbonio è uno dei materiali più utilizzati a contatto con il sangue. In ambito biomedicale viene usato con struttura *turbostratica*: è priva di ordine a lungo raggio come la grafite ma a differenza di essa la sovrapposizione degli strati cristallini è casuale, ciò è dovuto a slittamenti e rotazioni dei piani gli uni rispetto agli altri; inoltre tra i vari piani cristallini le interazioni sono forti a causa di vacanze che consentono di creare legami covalenti e quindi anche la distanza tra i vari piani esagonali

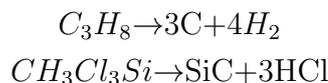
2.1. PROTESI VALVOLARI MECCANICHE

è ridotta rispetto alla grafite. Pertanto la struttura turbostratica è simile a quella della grafite ma le proprietà meccaniche sono simili a quelle del diamante grazie alla presenza dei legami covalenti tra gli strati.

Il carbonio pirolitico grazie alle sue proprietà di emocompatibilità, eccellente resistenza all'usura, alla fatica e al degrado viene utilizzato per realizzare i rivestimenti sulla grafite delle valvole cardiache meccaniche. Viene preparato per decomposizione termica sotto vuoto di gas di idrocarburi, per la precisione si ottiene per codeposizione di carbonio e carburo di silicio sui substrati in grafite tramite deposizione chimica in fase vapore a letto fluido.

Il sistema usato è un reattore (Figura 2.4) con un letto di particelle di zirconia su cui si appoggiano gli oggetti in grafite, vengono insufflati:

- Azoto, che ha il compito di agitare le particelle di zirconia per movimentare l'oggetto e rivestirlo completamente.
- Metiltriclorosilano, una miscela di gas di trasporto contenente il silicio, affinché formi il carburo di silicio che resta come seconda fase e consente di aumentare la resistenza a frattura, resistenza all'usura, durezza e modulo elastico.
- Propano come idrocarburo.



Tutto il processo avviene a temperature elevate (1000-1500°C) in modo che gli idrocarburi pirolizzino invece che bruciare, il carbonio ed il carburo che si generano per pirolisi si depositano su tutto ciò che è presente nel reattore (oggetti in grafite, particelle di zirconia e pareti del reattore).

L'unico materiale che resiste a queste temperature è la grafite, quindi questa metodologia si applica al rivestimento dei leaflets della valvole meccaniche.

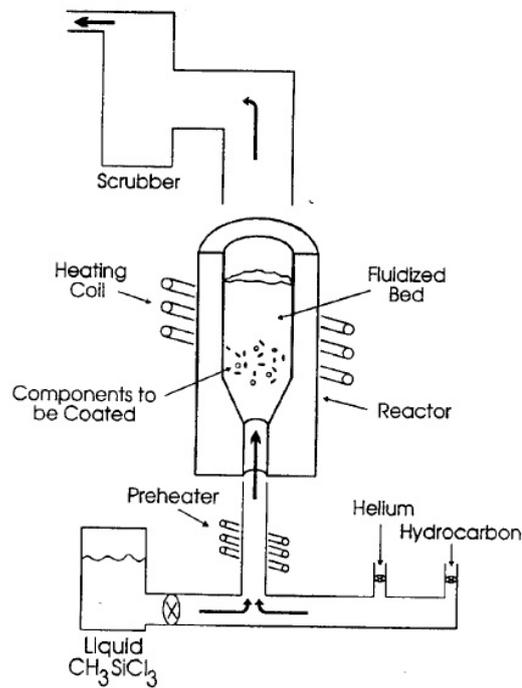


Figura 2.4: Reattore deposizione carbonio pirolitico

2.2 Protesi valvolari biologiche

Le protesi valvolari biologiche sono realizzate con materiali di sintesi e di origine biologica decellularizzati. Rispetto alle valvole meccaniche hanno un'emodinamica migliore e non danneggiano le cellule del sangue. I materiali biologici possono avere origine:

- **Umana**, si distinguono in:
 - *Homograft*: sono di cadavere, crioconservate in azoto liquido, è necessario verificare che le caratteristiche anatomiche siano compatibili.
 - *Autograft*: è un trapianto dallo stesso paziente, solitamente si sostituisce la valvola aortica con la polmonare autologa e quest'ultima viene sostituita con una protesi valvolare.
- **Animale**, si distinguono in:

2.2. PROTESI VALVOLARI BIOLOGICHE

- *Valvola porcina*: è la valvola aortica del suino.
- *Valvola pericardica*: viene realizzata partendo da foglietti di pericardio bovino.

In entrambi i casi gli animali vengono allevati in modo controllato, vengono soppressi e si espia ciò che serve; il tessuto viene poi decellularizzato. Tali valvole possono essere:

- **Stented**: il tessuto viene cucito a mano e inserito sopra un'armatura rigida (Nitinol).
- **Stentless**: senza l'armatura rigida, è quindi più simile a quella nativa.

Hanno una durata inferiore rispetto alle meccaniche (circa 15 anni) ma non necessitano di trattamento farmacologico anticoagulante. Consentono una migliore emodinamica, non danneggiano le cellule del sangue, hanno quindi prestazioni più elevate.

La principale causa di degrado delle valvole biologiche è la *calcificazione* che può causare stenosi e insufficienza, per questo sono indicate per pazienti anziani in quanto hanno minore tendenza alla calcificazione. In ogni caso il degrado è graduale può quindi essere pianificato un reintervento.

2.2.1 Valvola biologica porcina

La valvola porcina ha all'incirca le stesse dimensioni di quella umana, viene prelevata e trattata con glutaraldeide per decellularizzarla, viene poi suturata su di un supporto in lega Co-Ni (più recentemente anche polimerico) rivestito con Dacron (Figura 2.5). Svantaggi:

- Degrada in vivo per calcificazione
- Degrada in vivo per fatica
- Produce perdite di pressione
- Problema delle taglie

2.2. PROTESI VALVOLARI BIOLOGICHE



Figura 2.5: Valvola biologica porcina

2.2.2 Valvola pericardica

Sono valvole costruite con foglietti di pericardio bovino, ovvero la membrana che avvolge il cuore (Figura 2.6); il pericardio del bovino è abbastanza spesso da essere prelevato e lavorato, deve essere omogeneo dal punto di vista dello spessore e della meccanica. Vengono ricavate delle pezze rettangolari trattate con glutaraldeide per decellularizzarle. Rispetto alle valvole porcine non hanno il problema delle taglie. Svantaggi:

- Degrada in vivo per calcificazione
- Degrada in vivo per fatica
- Produce perdite di pressione

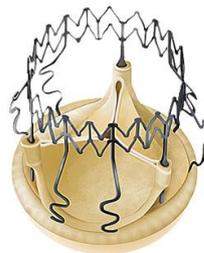


Figura 2.6: Valvola biologica pericardica

2.2.3 Trattamento con glutaraldeide

Per decellularizzare il tessuto animale e disinfettarlo viene trattato con glutaraldeide.

2.2. PROTESI VALVOLARI BIOLOGICHE

Nonostante la decellularizzazione non si riescono a fermare i processi di degradazione enzimatica del tessuto, viene usata la formaldeide ma comunque le reazioni enzimatiche vanno avanti lentamente e portano alla degradazione. La glutaraldeide interagisce con le molecole di collagene e le crosslinka, in questo modo il biomateriale diventa inerte, innocuo e stabile nel tempo. Essendo un aldeide interagisce con i gruppi amminici di due diverse molecole di collagene legandole. È una sostanza tossica, dopo il trattamento il tessuto va lavato al meglio.

Può però succedere che alcuni gruppi funzionali della glutaraldeide restino esposti e si leghino al calcio: fenomeno della *calcificazione* che porta al degrado della valvola. Per cercare di ovviare al problema viene eseguito un trattamento di detossificazione con acido omocisteico per saturare i gruppi non reagiti questo ne migliora la durata, la sicurezza e la biocompatibilità in quanto elimina gli effetti tossici della glutaraldeide e riduce la calcificazione progressiva della valvola. Il meccanismo di inibizione del processo di calcificazione prevede la neutralizzazione dei gruppi aldeidici della glutaraldeide rimasti liberi grazie al legame che essi instaurano con i gruppi amminici delle molecole dell'acido omocisteico.

Questo trattamento non compromette né la stabilità tissutale né le proprietà meccaniche conferite dal crosslinking tra glutaraldeide e collagene.

2.2.4 PVD Physical Vapour Deposition

Per quanto visto, le valvole biologiche necessitano di rivestimento in pirocarbonio sullo stent e sui fili di sutura.

Per poter rivestire con il carbonio pirolitico materiali più basso fondenti della grafite come metalli e polimeri, si sfrutta la deposizione al plasma. L'oggetto da rivestire è inserito in una camera (Figura 2.7) a temperatura ambiente, pressione ridotta e contenente argon come gas inerte.

Da un filamento elettrico vengono generate delle scariche di elettroni che consentono di generare un fascio di ioni argon i quali vengono accelerati su di un catodo in carbonio pirolitico che si disgrega e i microaggregati atomici vanno sull'oggetto da rivestire.

2.2. PROTESI VALVOLARI BIOLOGICHE

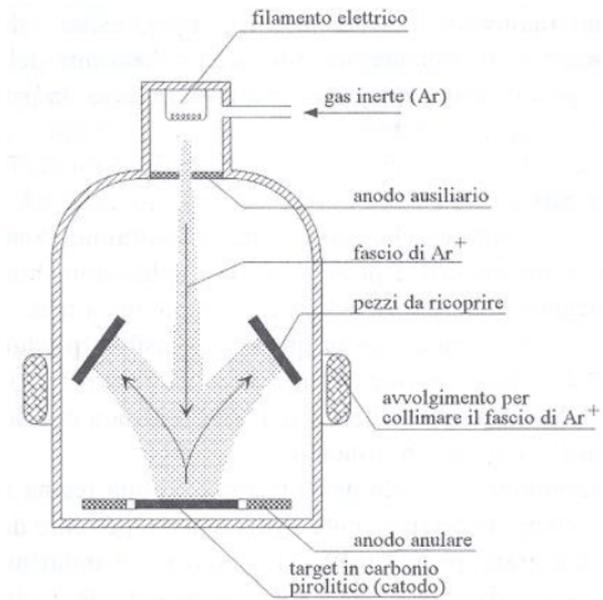


Figura 2.7: Camera deposizione carbonio pirolitico

Con questa metodologia è possibile rivestire i fili di sutura e lo stent delle protesi valvolari biologiche.

CAPITOLO3

Valvola Perceval

LivaNova Perceval è una protesi valvolare biologica, è indicata per la sostituzione della valvola aortica nativa malata o per malfunzionamento di una protesi aortica. Perceval è una valvola cardiaca pericardica con un design *sutureless* e *collapsible* che semplifica l'impianto riducendo i traumi dell'operazione e le complicazioni post operatorie, consente quindi al paziente tempi di recupero più rapidi.

Ha due componenti principali:

- **Valvola di tessuto** (Figura 3.1):
 - Pericardio bovino
 - Design double-sheet
 - Occhielli per guidare il posizionamento *sutureless*
- **Armatura auto-ancorante** (Figura 3.2):
 - Lega nickel-titanio autoespandibile
 - Design anatomico degli strut
 - Geometria doppio-anello
 - Design conico dell'anello di deflusso
 - Design speciale dell'anello di afflusso
 - Rivestimento in Carbofilm



Figura 3.1: Valvola di tessuto

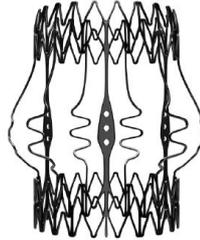


Figura 3.2: Armatura auto-ancorante

L'armatura (Figura 3.2) è una lega nickel-titanio (Nitinol) rivestita con Carbofilm; lo stent superelastico consente l'autoancoraggio e l'autoespansione radiale, il suo design gli permette di funzionare come *shock absorber* per minimizzare gli stress sui leaflets. Lo stent elastico consente alla valvola di adattarsi ai movimenti della radice aortica durante il ciclo cardiaco.

Il rivestimento con il carbofilm inibisce l'aggregazione e l'attivazione delle piastrine e l'attivazione dei fattori del sangue, inoltre previene la formazione di coaguli e trombi e riduce le reazioni infiammatorie locali promuovendo la formazione di uno strato di neointima bene organizzato.

Il suo design collapsible semplifica l'operazione di impianto, grazie ad accessori dedicati viene effettuata una riduzione significativa del diametro della valvola prima dell'impianto, questo consente di avere ottima visibilità e un'importante semplificazione delle operazioni di impianto. Inoltre, la possibilità di ridurre il diametro consente di minimizzare l'incisione dando minore trauma al paziente, infatti la valvola Perceval è stata disegnata per la chirurgia cardiaca mini invasiva (MICS); essendo *sutureless* vengono ridotte le manipolazioni interne, sono presenti tre suture di guida per il suo corretto posizionamento nella radice aortica (Figura 3.3).

Per l'inserimento della valvola si usa un palloncino riempito con soluzione salina che consente un ottimo posizionamento nella radice aortica e riduce il rischio di perdite paravalvolari; il palloncino agisce solo a livello di afflusso

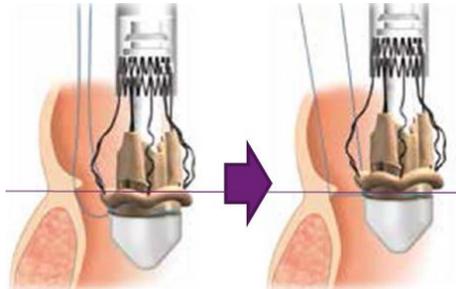


Figura 3.3: Guiding stures

quindi i leaflets non sono coinvolti, non viene danneggiato l'annulus e non viene causata alcuna deformazione alla geometria dello stent che non viene allungato oltre il suo massimo diametro (Figura 3.4).

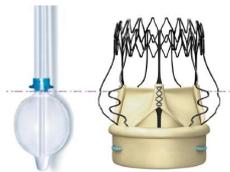


Figura 3.4: Perceval ballooning

3.1 Trattamenti

Il tessuto pericardico subisce i seguenti trattamenti:

- **Prefissazione:** con glutaraldeide a bassa concentrazione, dura qualche ora e serve a dare al tessuto maggiore resistenza meccanica necessaria durante la fase di creazione della valvola.
- **Fissazione:** con glutaraldeide a più alta concentrazione, dura molte più ore, è eseguito con un sistema fluido automatico, la fissazione e il modellamento (formazione dei leaflets) avvengono contemporaneamente; consente di dare al tessuto: stabilità, durabilità meccanica, riduzione dell'immunogenicità.

3.1. TRATTAMENTI

- **Neutralizzazione:** con acido omocisteico, necessario per saturare i gruppi aldeidici della glutaraldeide non legati che promuovono: calcificazione e danneggiamento del sangue (tossicità) (Figura 3.5).

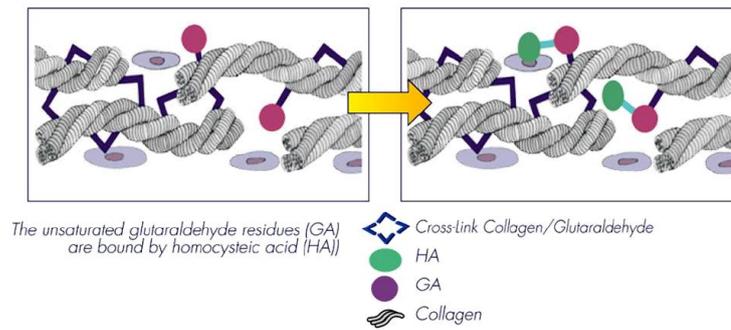


Figura 3.5: Processo di neutralizzazione

- **Conservazione:** la valvola è inserita in soluzione tampone fosfato senza aldeide, con parabeni (Figura 3.6).



Figura 3.6: Storage

Con questi trattamenti la tossicità è eliminata, le caratteristiche strutturali sono preservate e il processo di calcificazione è ridotto.

I test in vitro mostrano che la valvola Perceval consente un ampio flusso laminare come quello naturale, in sistole il flusso è caratterizzato da un singolo getto che copre l'intera cross-section, l'inversione del flusso avviene prima alle pareti e inseguito al centro del canale, non si osservano rigurgiti in diastole (Figura 3.7). Tutto ciò dimostra l'eccellente performance della valvola Perceval.

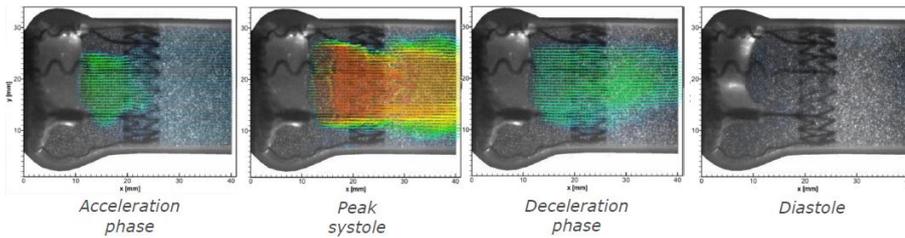


Figura 3.7: In-vitro Tests

3.2 Controllo qualità

Per costruire la valvola si parte da pezze di pericardio bovino grezzo che vanno controllate e scelte opportunamente, bisogna garantire che vi sia omogeneità dal punto di vista dello spessore e della meccanica, pertanto vengono eseguiti una serie di controlli ed il tutto avviene in camera pulita (ISO 8). Le pezze rettangolari vengono sottoposte ad un osservazione visiva per scartare quelle che presentano evidenti disomogeneità (ad esempio zone con vasi sanguigni) viene inoltre misurato lo spessore su tre punti. Quelle non scartate vengono sottoposte a prefissazione (glutaraldeide a bassa concentrazione), e vengono nuovamente selezionate, poi per ogni lotto viene testato un campione attraverso lo *Shrinkage Test*. Se il lotto è approvato vi è un ulteriore selezione del tessuto e il materiale viene portato in una camera ancora più pulita (ISO 6), qui viene ritagliato della forma voluta e cucito manualmente allo stent autoespandibile in Nitinol e all'anello di sutura.

La valvola viene trattata con glutaraldeide a più alta concentrazione per la sagomatura dei leaflets e viene sottoposta al trattamento bioburden per la riduzione della carica batterica; Nel contenitore assieme alla valvola vengono inseriti dei campioni del pericardio utilizzato per la sua realizzazione, in

3.2. CONTROLLO QUALITÀ

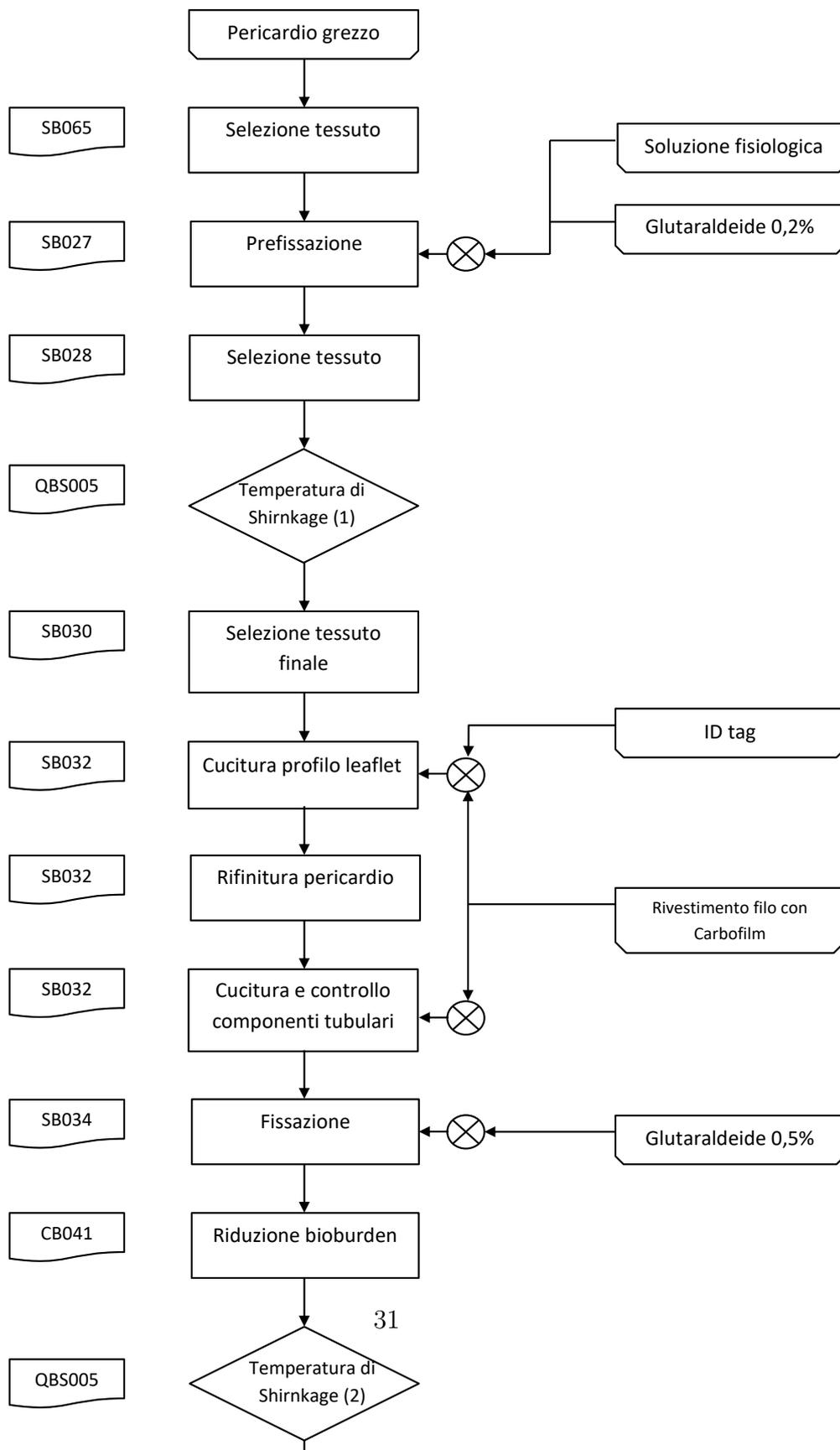
modo che subiscano lo stesso trattamento con la glutaraldeide, uno di questi campioni viene poi nuovamente portato nella ISO 8 per essere sottoposto allo *Shrinkage Test*.

La valvola, dopo il trattamento di fissazione subisce nuovamente una selezione visiva e una misura dello spessore, viene poi effettuato un test funzionale (open/close) in cui vengono simulate le reali condizioni d'uso ed il suo funzionamento è registrato tramite una telecamera che consente al software di dichiarare se la valvola si apre/chiude correttamente sulla base del ciclo impostato.

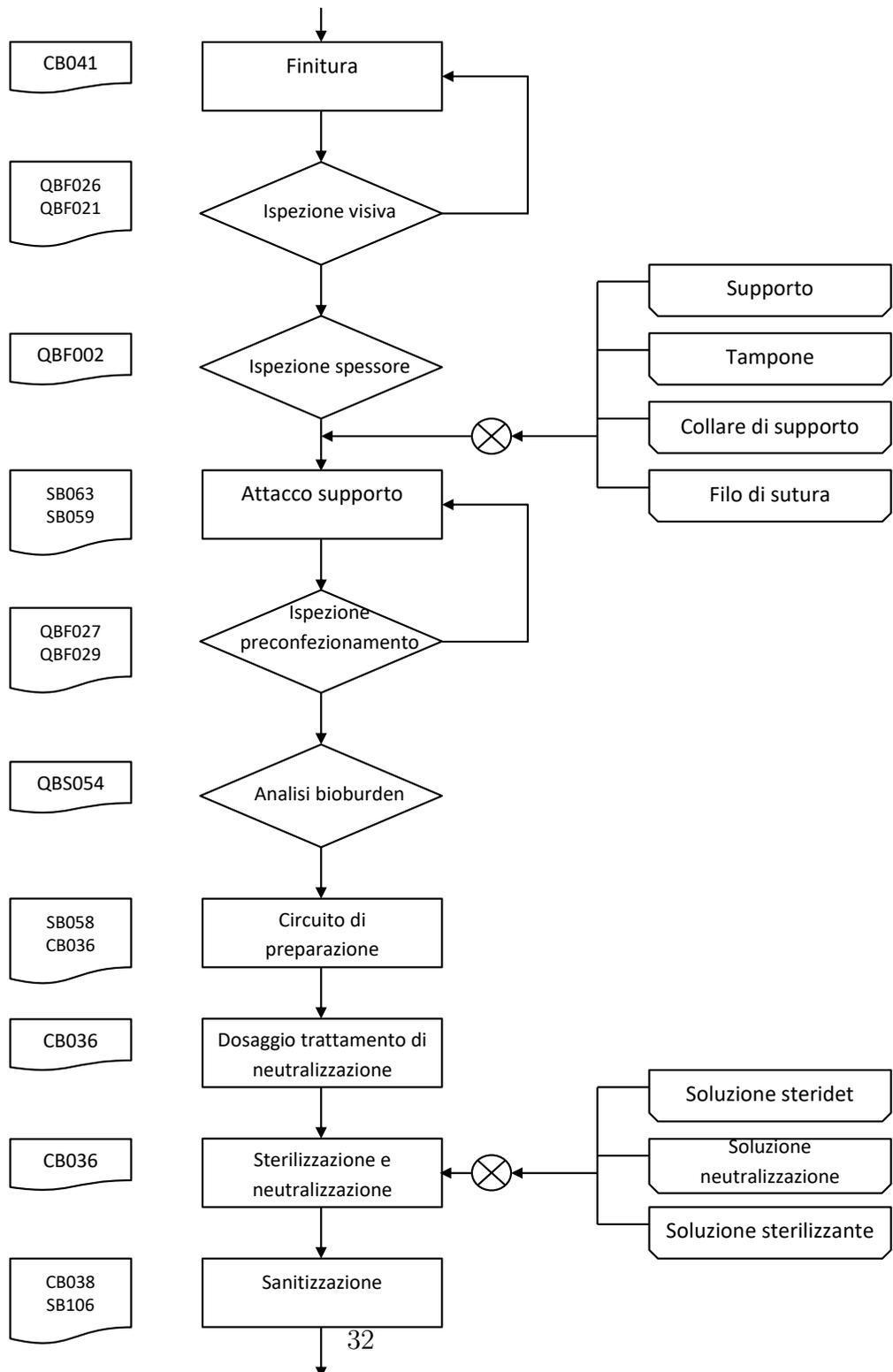
Viene valutata la carica microbica (analisi bioburden), la valvola viene sottoposta a sterilizzazione, neutralizzazione e sanitizzazione. Viene confezionata, viene fatta un'analisi LAL e un test di sterilità. Se i risultati sono tutti corretti, viene chiusa nel barattolo, la confezione è ispezionata e si valutano eventuali perdite.

Di seguito è riportato il Process Validation Master Plan (PVMP-010) relativo all'assemblaggio della valvola e ai controlli di qualità che vengono eseguiti, accanto ad ogni step viene riportato il codice della procedura a cui fa riferimento:

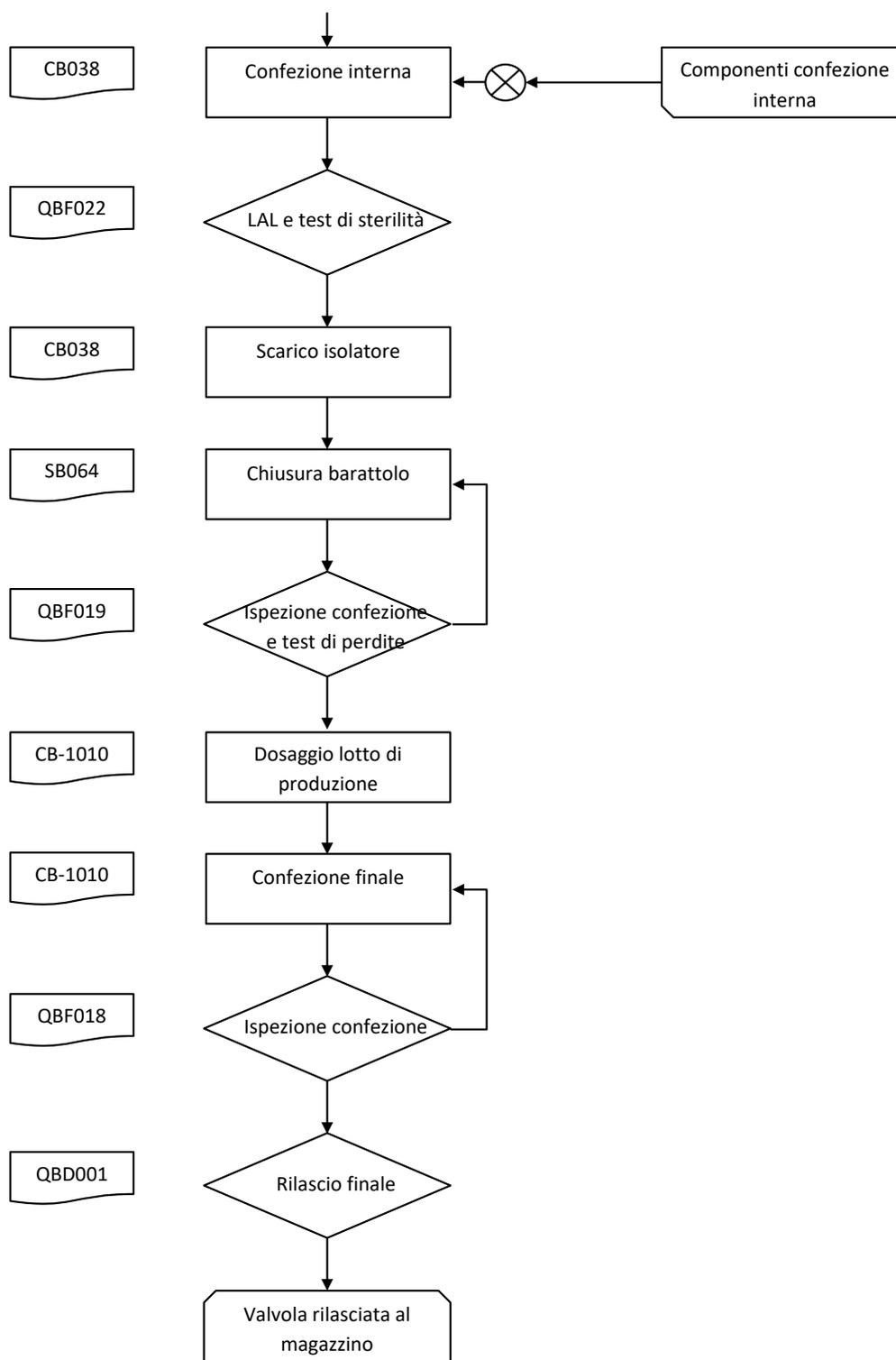
3.2. CONTROLLO QUALITÀ



3.2. CONTROLLO QUALITÀ



3.2. CONTROLLO QUALITÀ



CAPITOLO4

Shrinkage Test

4.1 Scopo della macchina

La macchina per Shrinkage Test viene utilizzata presso il Controllo Qualità Valvole Biologiche della sede di Saluggia (VC) dell'azienda LivaNova, per verificare se i trattamenti di prefissazione e sagomatura con glutaraldeide sono andati a buon fine. Il suo scopo è quello di rilevare la *temperatura di shirinkage*, ovvero la temperatura alla quale il campione di pericardio inizia a contrarsi. Per i due tipi di trattamento con glutaraldeide esistono due diversi range di temperatura accettabili (trattamento andato a buon fine).

La prova che consente di misurare tale valore di temperatura consiste nel riscaldare in un bagno con soluzione fisiologica, con una determinata rampa di temperatura, otto provini di pericardio collegati ad un sistema in grado di rilevare gli spostamenti e la temperatura a cui inizia la contrazione. L'assegnazione di tale valore è automatica ed è ottenuta osservando la monotonia del coefficiente angolare della curva temperatura-deformazione; se la monotonia è mantenuta per un numero prestabilito di valori allora al primo di tali punti corrisponde la temperatura di Shrinkage.

Per la verifica del trattamento di fissazione viene usato un campione per ogni lotto, invece per il test sulla sagomatura viene testato un campione per ogni valvola.

4.2 Precedente metodo di analisi

La precedente macchina (Figura 4.1) per Shrinkage Test prevedeva una vasca esterna riempita di acqua deionizzata riscaldata e posta in agitazione per uniformare la temperatura e una vasca interna, la camera di test (Figura 4.2), riempita di soluzione fisiologica in cui vanno inseriti i campioni di pericardio. Essi vengono pinzati all'interno di portacampioni collegati tramite un filo a dei contrappesi che modificano la loro posizione quando il pericardio si contrae; tale spostamento veniva misurato con trasduttori di spostamento induttivo: LVDT.



Figura 4.1: Shrinkage Test attualmente in uso

4.3. DESCRIZIONE DEI COMPONENTI DELLA MACCHINA



Figura 4.2: Camera di test attualmente in uso

4.3 Descrizione dei componenti della macchina

Si è scelto di cambiare la macchina per Shrinkage test per utilizzare materiali, componenti e sensoristica più all'avanguardia ma soprattutto perché il sistema di riscaldamento richiedeva una potenza troppo elevata e dunque pericolosa, il motorino collegato all'agitatore andava sostituito spesso in quanto questo è collegato come una trave a sbalzo che si usura frequentemente, inoltre i sensori di spostamento LVDT si sporcavano e ossidavano facilmente pertanto si è scelto di sostituirli con sensori laser contactless.

I componenti della nuova macchina (Figura 4.3) sono:

- *Sistema di riscaldamento*: la camera di test viene riscaldata per induzione mediante una piastra riscaldante posta dietro la camera e 8 resistenze poste sotto la camera.
- *Sensori di temperatura*: sono tre PT100 e si trovano ad altezze diverse: quella di sinistra è a metà vasca, la sonda centrale è la più bassa, la sonda a destra è la più alta. La sonda centrale viene usata come riferimento, le due laterali servono per monitorare che vi sia omogeneità di temperatura nella camera di test orizzontalmente, la più alta (destra) e la più bassa (centrale) garantiscono che vi sia omogeneità verticalmente.

4.3. DESCRIZIONE DEI COMPONENTI DELLA MACCHINA

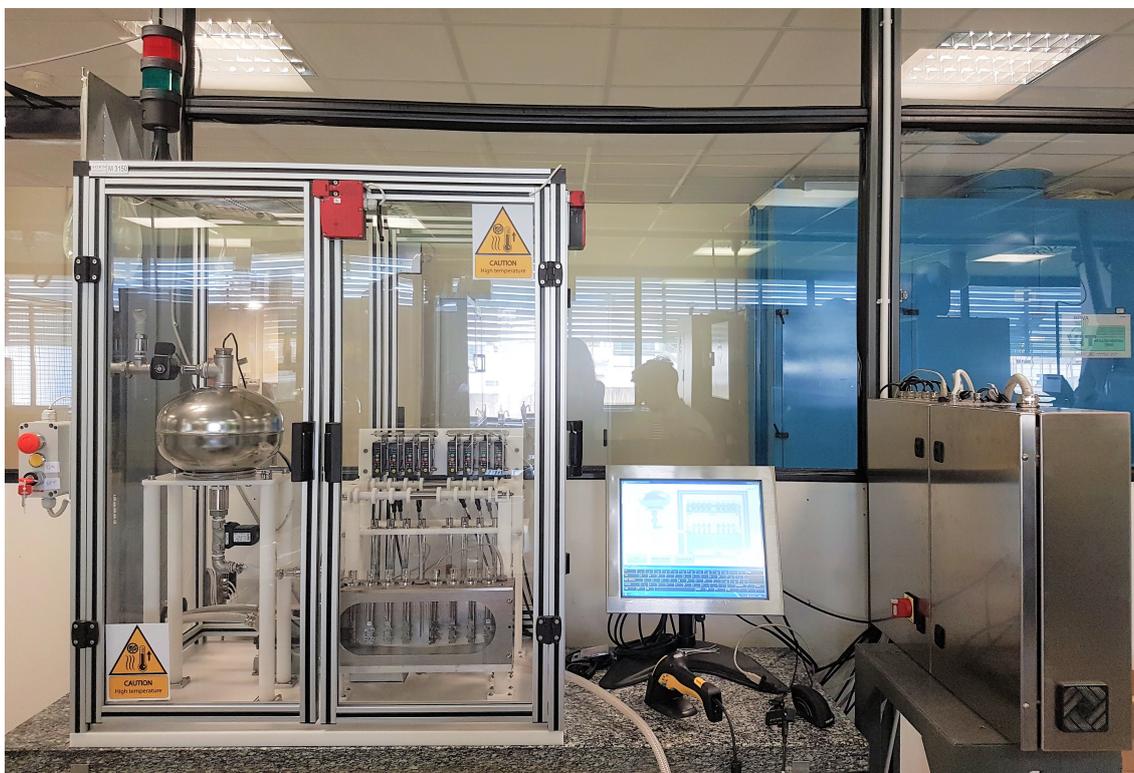


Figura 4.3: New Shrinkage Test equipment

- *Camera di test* (Figura 4.4): è riempita con soluzione fisiologica, la parete frontale all'operatore è in vetro temprato in modo che si possano vedere gli otto portacampioni al suo interno. La macchina viene azionata più volte al giorno pertanto serve un metodo di raffreddamento rapido, si è scelto di far riempire la camera con soluzione fresca per due volte in modo da raffreddare i componenti meccanici. Viene riempita e svuotata automaticamente alla fine del test tramite due elettrovalvole. Sulla sua superficie sono stati ricavati i QR code identificativi di ogni postazione mediante incisione laser.
- *Sistemi di misura laser* (Figura 4.5): sono otto sensori di quota contactless per la misura dell'accorciamento dovuto alla contrazione del pericardio.
- *Torpets*: usato per la misura dello spostamento, il filo si muove su una

4.3. DESCRIZIONE DEI COMPONENTI DELLA MACCHINA



Figura 4.4: Camera di Test



Figura 4.5: Sistemi di misura laser

doppia serie di guide per migliorarne la posizione e assicurare che si muova sempre rettilineo. Si è scelto di utilizzare un filo in Nylon 6,6 in quanto più resistente a trazione e genera il minor attrito possibile scorrendo sulle due pulegge in POM (poliossimetilene) sui cui è incanalato. Un'estremità del filo viene collegata ai portacampioni, l'altra estremità a dei contrappesi il movimento della cui superficie è rilevato dai laser.

4.3. DESCRIZIONE DEI COMPONENTI DELLA MACCHINA

- *Struttura trasparente*: contiene la camera di test, il plumber ed i laser. È dotata di una griglia di sfato per evitare la presenza di umidità e di due porte con elettroserratura che consente l'apertura solo sotto un valore di temperatura impostato. È inoltre equipaggiata con un semaforo che segnala all'operatore quando le porte possono essere aperte.
- *Portacampioni*: inizialmente si era deciso di mantenere la geometria dei portacampioni utilizzati precedentemente, durante il collaudo della macchina è stato invece deciso di modificare i fermi a molla per la chiusura delle pinze per garantire una migliore ergonomia durante l'utilizzo. Sulla loro superficie è stato ricavato tramite incisione laser un QR code identificativo di ogni portacampioni.
- *Termostati*: sono due e servono per gestire gli allarmi relativi al sistema di riscaldamento e all'apertura/chiusura delle porte.
- *Plumber*: è un serbatoio che contiene la soluzione fisiologica ed è dotato di sensore di livello per controllare la quantità di soluzione.
- *Lettore di codice a barre*: viene usato per leggere i codici dei portacampioni e delle postazioni nella camera di test. Serve per evitare che si abbia perdita di tracciabilità del campione a causa della distrazione dell'operatore.
- *Bottone di emergenza*: se premuto il sistema di riscaldamento si spegne e il sistema si resetta.

Rispetto alla precedente macchina sono stati introdotti numerosi sistemi per garantire la **sicurezza** degli operatori e della macchina stessa:

- *Struttura trasparente*: evita che gli operatori si brucino toccando involontariamente la camera di test durante il riscaldamento. Inoltre evita che i componenti della macchina si sporchino.
- *Sensore di temperatura*: collegato alle resistenze inferiori per monitorarne la temperatura e nel caso in cui superasse una soglia critica, viene attivato l'allarme e il sistema di riscaldamento viene automaticamente disattivato.

- Controllo della temperatura della camera effettuata su una centralina autonoma stand-alone che tramite software impedisce l'apertura delle porte durante tutte le fasi di test e ne consente la riapertura in raffreddamento quando la temperatura scende sotto 35°C/min.

4.4 Funzionamento

Premendo l'interruttore generale si avvia l'intera macchina, l'utente deve avviare il programma "Shrinkage" e a monitor viene richiesto il log in con username e password, dopodiché appare il menù generale (Figura 4.6):

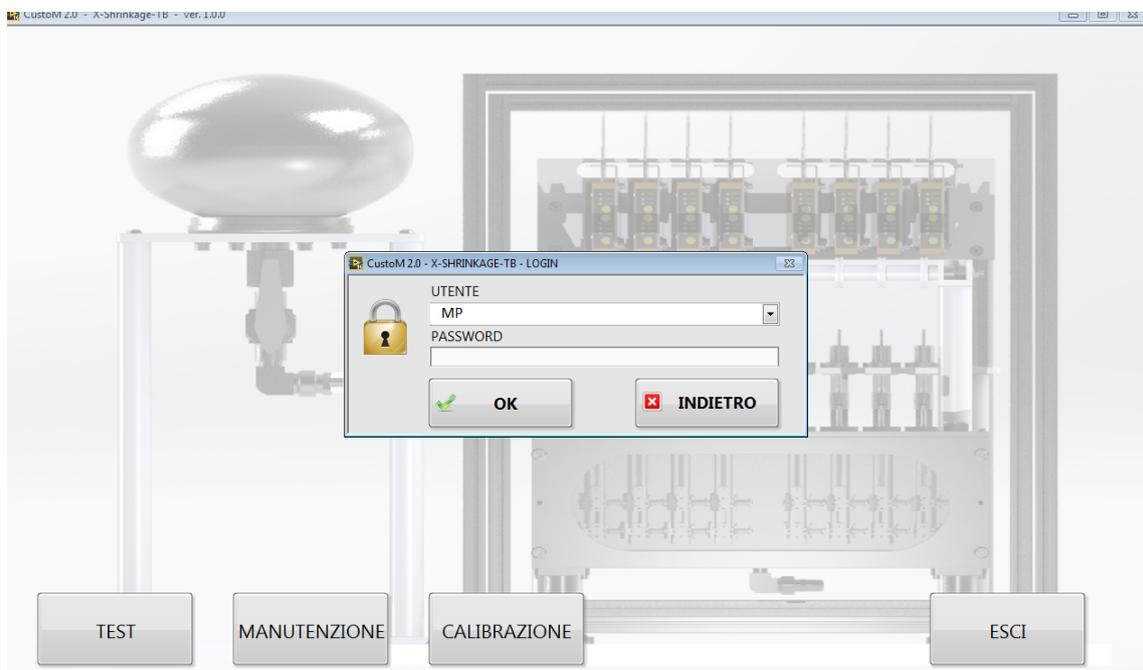


Figura 4.6: Log in e menù generale

- Calibrazione (Figura 4.7): accessibile solo dagli addetti alla calibrazione per poter modificare gain e offset dei sensori di temperatura e dei laser.
- Manutenzione (Figura 4.8): accessibile solo dagli addetti alla manutenzione, è possibile fare le seguenti scelte:

4.4. FUNZIONAMENTO

ANALOG INPUT		ANALOG OUTPUT	DIGITAL RESOURCES		REAL TIME TREND
Raw			Slope	Offset	EGU
5.91837	FEEDBACK_VOLTAGE		6.500	0.000	0.000
5.49040	FEEDBACK_CURRENT		1.000	0.000	0.000
5.07531	AnalogInput2		1.000	0.000	0.000
4.64971	CORRENTE_TOT		16.402	0.180	0.000
4.22276	AnalogInput4		1.000	0.000	0.000
3.81186	AnalogInput5		1.000	0.000	0.000
3.40364	AnalogInput6		1.000	0.000	0.000
3.02647	AnalogInput7		1.000	0.000	0.000
-0.01038	SENSORE1		3090.100	-29.202	0.000
-0.01200	SENSORE2		3090.100	-29.202	0.000
-0.01348	SENSORE3		3090.100	-29.202	0.000
-0.01483	SENSORE4		3090.100	-29.202	0.000
-0.01614	SENSORE5		3090.100	-29.202	0.000
-0.01731	SENSORE6		3090.100	-29.202	0.000
-0.01829	SENSORE7		3090.100	-29.202	0.000
-0.01921	SENSORE8		3090.100	-29.202	0.000
-244.49620	PTX_WH		1.000	-1.000	0.000
-244.52708	PTX_WM		1.000	-1.000	0.000
-244.55915	PTX_WL		1.000	-1.000	0.000
-244.59068	PTX_EXT		1.000	-1.000	0.000

Figura 4.7: Pagina di Calibrazione

- attivazione manuale delle periferiche d'uscita
- ristampa dei report
- modifica dei parametri di funzionamento della macchina: livelli di temperatura, soglie di sicurezza, gradiente di temperatura, scostamento di temperatura massimo, frequenza di campionamento e di storicizzazione, campioni media mobile, numero campioni per calcolo pendenza, range di accettabilità
- aggiunta/modifica di utenti
- Test.

Una volta selezionata la modalità test la macchina esegue una serie di operazioni automatiche:

- Riempimento del plumber con soluzione fisiologica
- Riempimento della camera di test con soluzione fisiologica

4.4. FUNZIONAMENTO

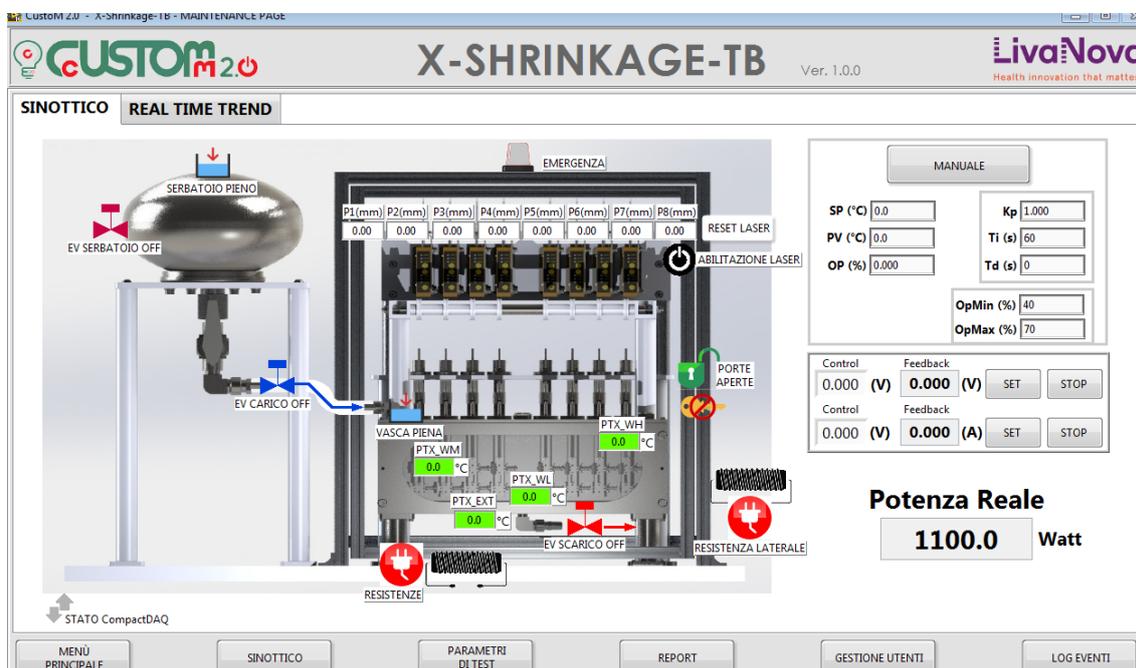


Figura 4.8: Manutenzione - Sinottico

- Verifica della temperatura nella camera di test: il valore misurato dal sensore di temperatura centrale deve essere inferiore al valore impostato come "temperatura minima".
- Verifica dell'omogeneità di temperatura nella camera di test: ottenuta confrontando i valori di temperatura dei due sensori laterali (verifica orizzontale) e dei sensori più alto e più basso (verifica verticale). La differenza di tali valori deve essere inferiore ad una soglia impostata.
- Verifica del corretto posizionamento della superficie letta dai laser.

Se una di queste operazioni automatiche è fuori dai range di accettabilità appare un allarme a monitor ed il controllo di tali operazioni riparte dall'inizio. L'operatore ha il compito di tagliare il campione (5x30mm circa) e inserirlo nel portacampioni (Figura 4.9) utilizzando un apposito distanziale per il corretto posizionamento.

Sullo schermo (Figura 4.10) sono presenti otto grafici temperatura-contrazione, uno per ogni postazione e un grafico tempo-temperatura in cui è presente

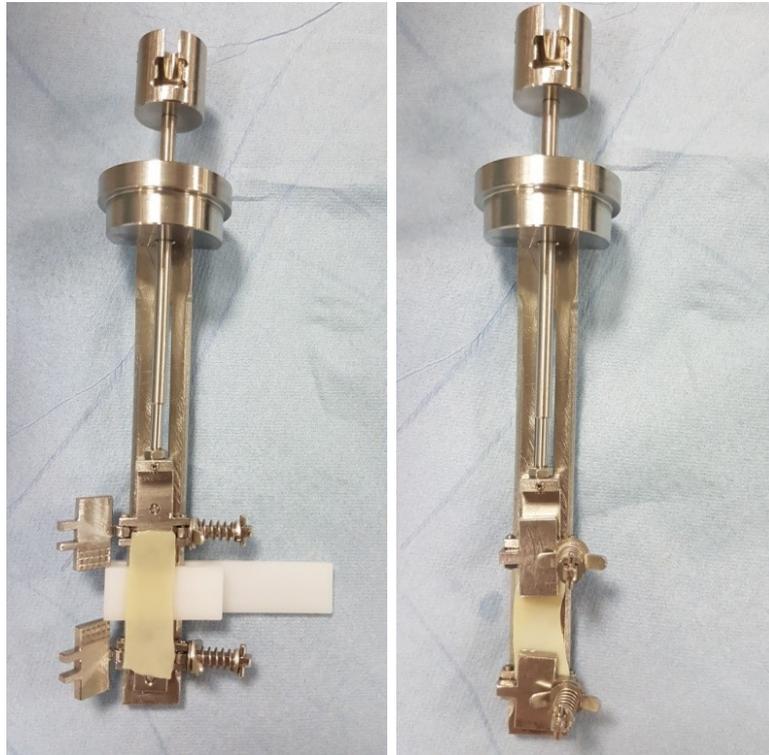


Figura 4.9: Posizionamento campione

l'andamento teorico che si avrebbe scaldando a $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, durante l'esecuzione del test viene visualizzato anche l'andamento reale e grazie al sistema cyber-fisico le due curve vengono confrontate continuamente per assicurare che l'andamento reale non si discosti da quello teorico $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$, se così non fosse apparirebbe un allarme a monitor e la prova verrebbe interrotta.

Sotto ad ogni grafico è presente un pulsante per disabilitare le postazioni nel caso in cui ci fossero meno di otto campioni da testare ed è presente il tasto "TEST", una volta premuto appaiono le seguenti richieste (Figura 4.11):

- Codice campione: numero del lotto se si sta testando un campione prefissato; serial number se si sta testando un campione fissato.
- Scelta del tipo di fissazione.
- QR code del portacampioni.
- QR code della postazione.

4.4. FUNZIONAMENTO

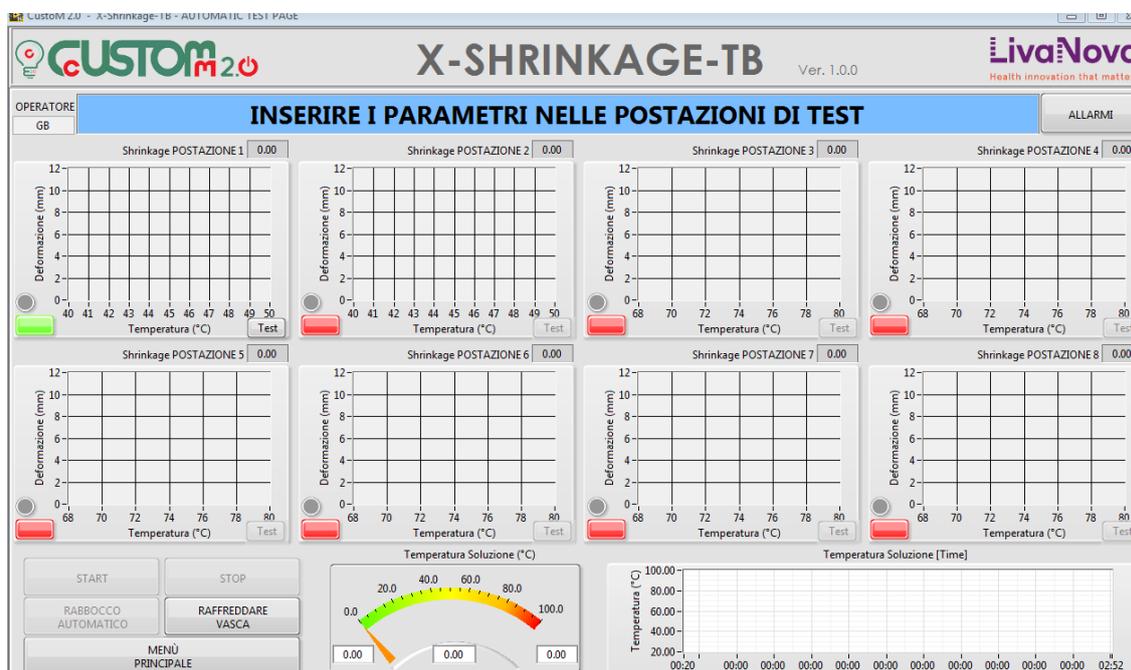


Figura 4.10: Schermata Test

Se i QR code letti non sono relativi alla posizione corrente la lettura appare in rosso ed è necessario scannerizzare il codice corretto.

Dopo aver inserito tutti i campioni e chiuso le porte premendo START appare un riassunto (Figura 4.12) dei dati inseriti, se l'operatore rileva degli errori può modificarli, altrimenti parte il test.

Le resistenze iniziano a riscaldare e le porte sono bloccate, raggiunta la temperatura di inizio test (T_i) parte la fase di test ed i laser iniziano a prendere i punti considerando come *zero* la posizione attuale della superfici lette; quando si raggiunge la temperatura di fine test (T_f) le piastre si spengono e il raffreddamento è ottenuto svuotando la camera e riempiendola con soluzione fisiologica fresca, vengono effettuati due cicli di raffreddamento, alla fine la camera di test viene lasciata vuota.

Durante l'intera fase di test i sensori di temperatura monitorano continuamente per garantire che vi sia omogeneità di temperatura, tale controllo è effettuato verificando che la differenza di temperatura letta tra le due sonde laterali non superi $1,5^{\circ}\text{C}$ e che la differenza di temperatura letta tra la sonda più bassa (centrale) e la più alta (destra) non superi $1,5^{\circ}\text{C}$.

4.4. FUNZIONAMENTO

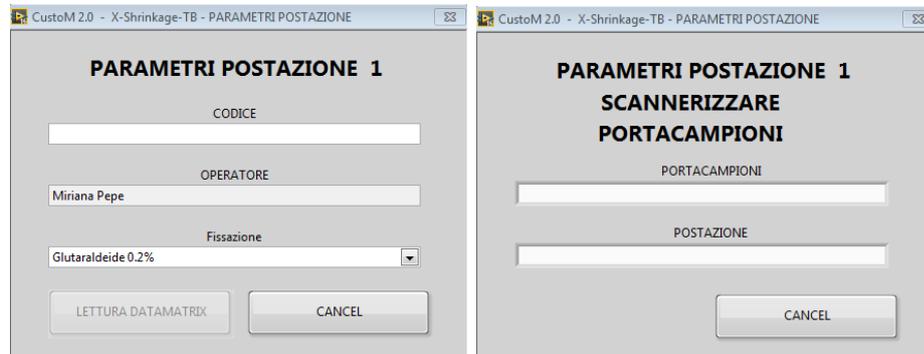


Figura 4.11: Inserimento parametri

All'inizio si era deciso di controllare che la camera di test fosse sempre piena di soluzione fisiologica onde evitare che l'alternanza liquido-aria generasse gradienti di temperatura, in fase di collaudo ci si è resi conto che si trattava di un controllo ridondante in quanto un'eventuale perdita avrebbe causato una differenza di temperatura elevata tra due sonde, tale allarme causa l'interruzione del test pertanto i sensori di livello vengono controllati soltanto durante il rabbocco automatico pre-test e durante la fase di raffreddamento automatica.

Terminato il test, a monitor, sopra ogni grafico c'è il relativo valore di temperatura di Shrinkage. Il report che si ottiene per ogni campione viene salvato in un formato non modificabile e viene stampato.

Nel report devono essere riportati: il nome dell'operatore che ha eseguito il test, il codice identificativo del campione, l'esito del test con il relativo grafico, data, ora e la presenza di eventuali anomalie.

Rispetto alla progettazione iniziale sono stati aggiunti dei poka-yoke per evitare errori di distrazione:

- QR code: per assicurare che l'operatore non inserisca un portacampioni nella postazione associata ai dati di un altro campione. La procedura prevede che vengano prima inseriti i dati del campione, poi viene scannerizzato il codice sul portacampioni, viene caricato il campione, inserito nella vasca e scannerizzato il QR code della postazione.
- Led sotto il grafico per indicare che in quella postazione sono stati

4.5. DIAGRAMMI DI FLUSSO

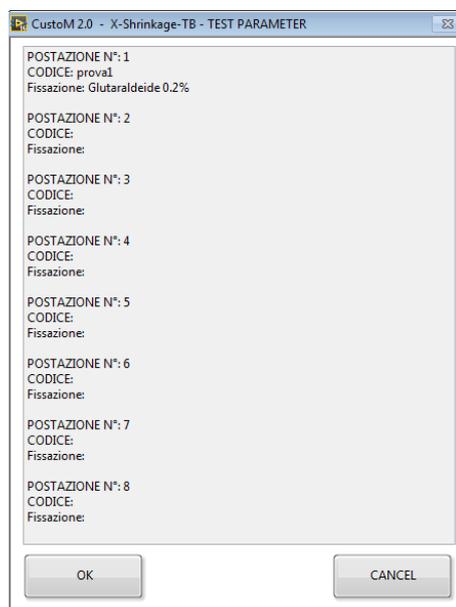


Figura 4.12: Finestra riassuntiva

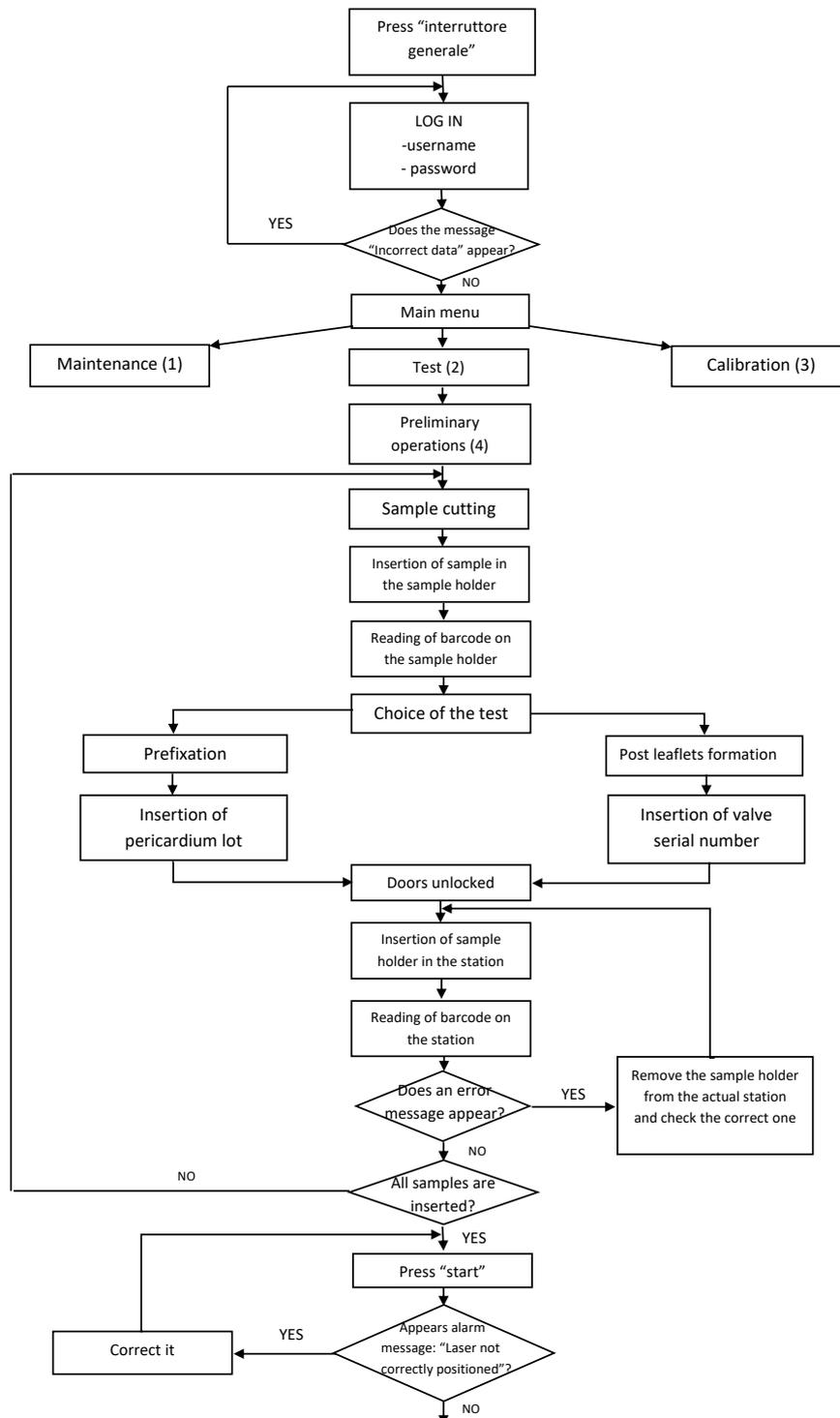
inseriti i dati del campione.

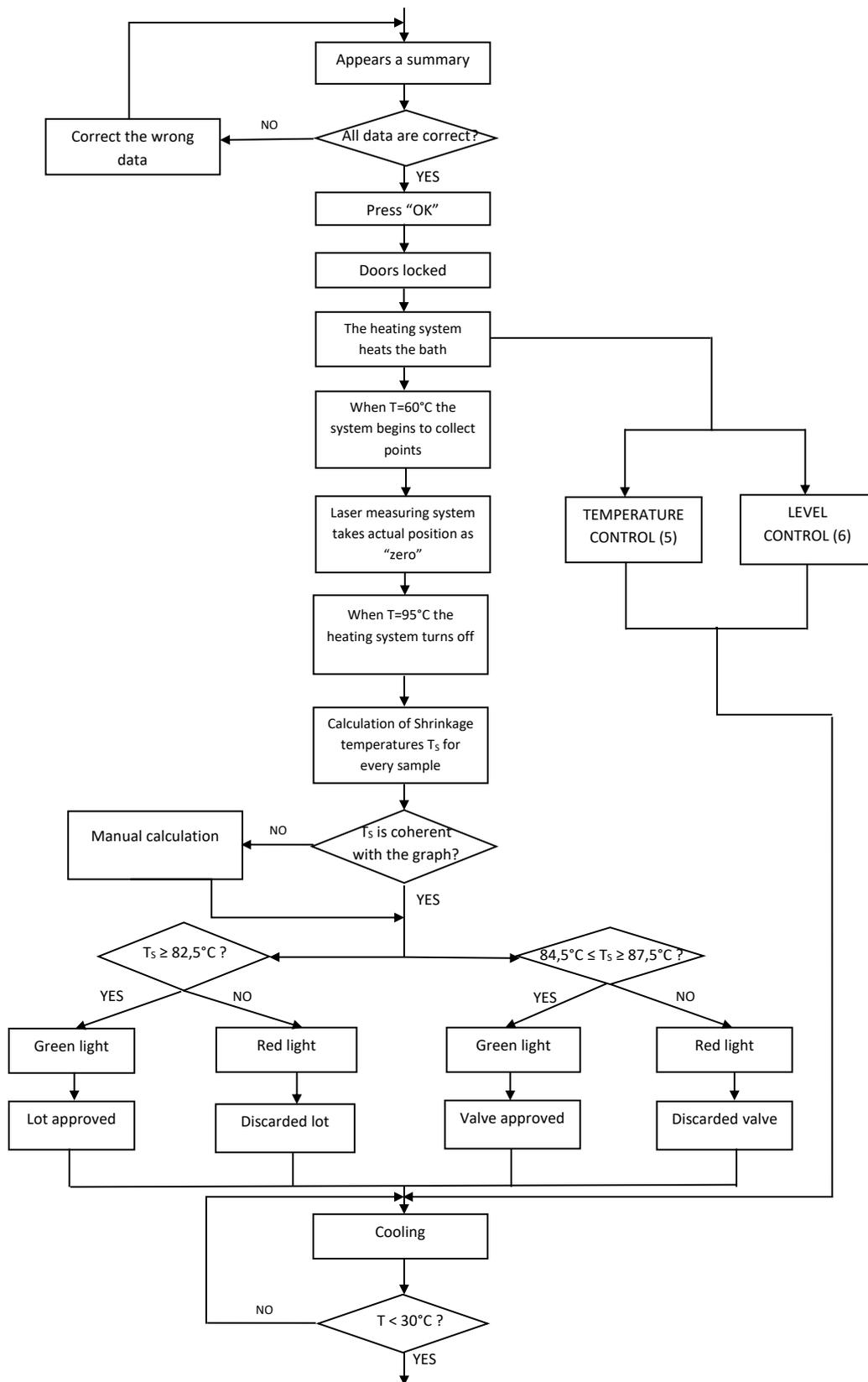
- Riassunto a fine inserimento dati per verificare nuovamente di non aver commesso errori.
- Messaggio di errato posizionamento laser per indicare che il filo non è stato correttamente portato a trazione, il led sotto il grafico lampeggia per indicare la posizione da modificare.

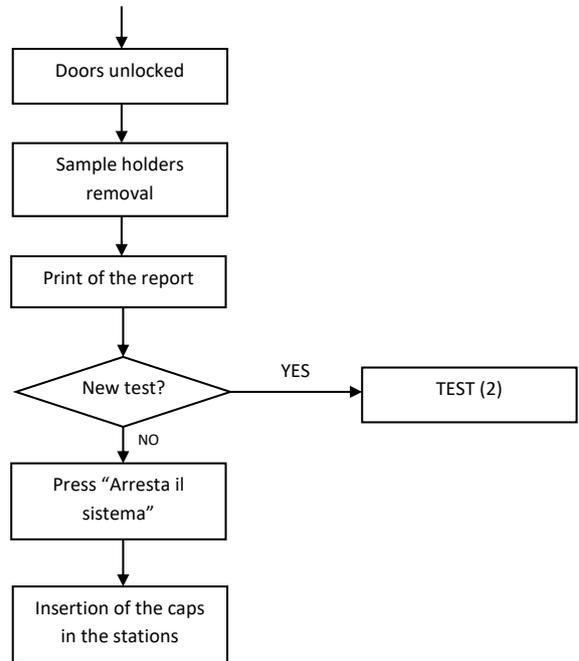
4.5 Diagrammi di flusso

Di seguito sono riportati i diagrammi di flusso che meglio rappresentano il funzionamento della macchina di test.

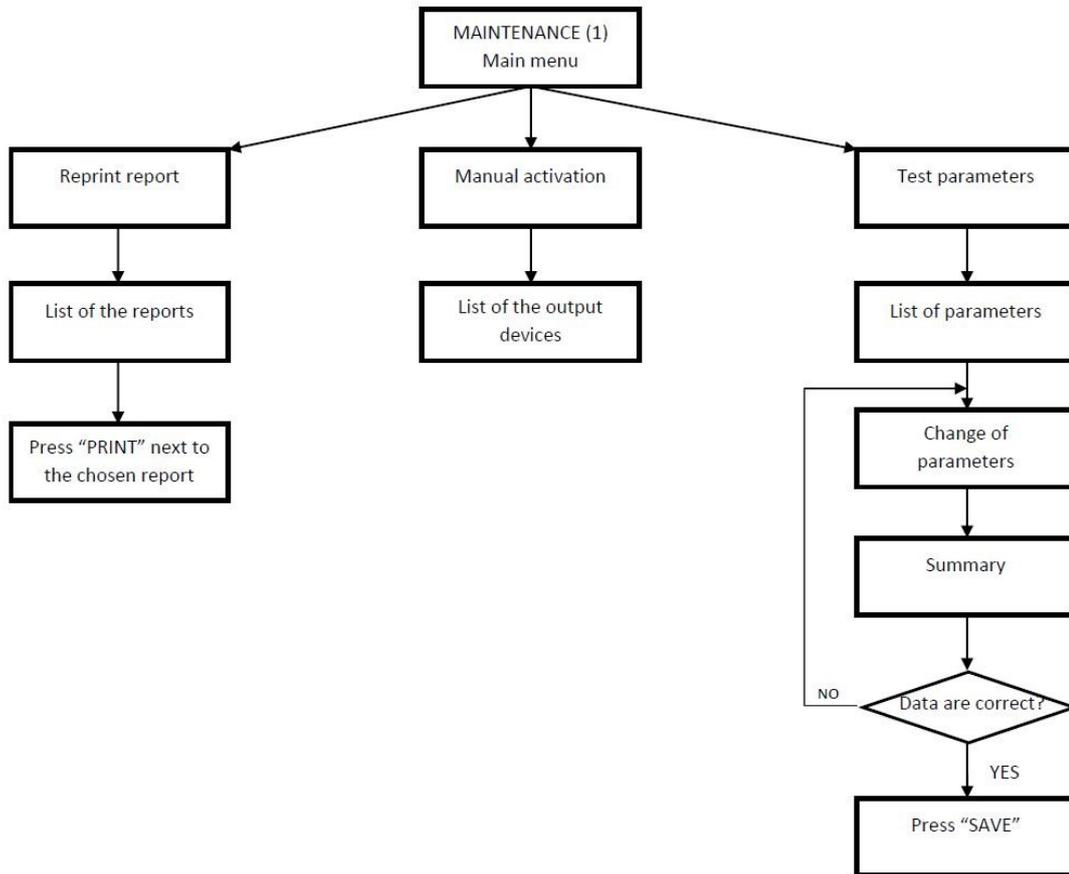
Overall flowchart



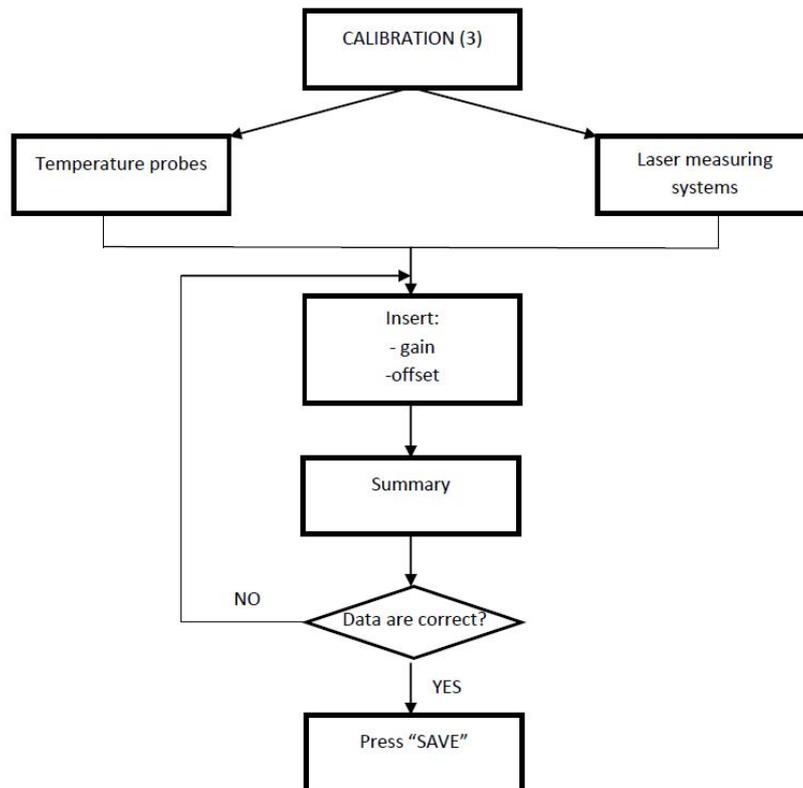




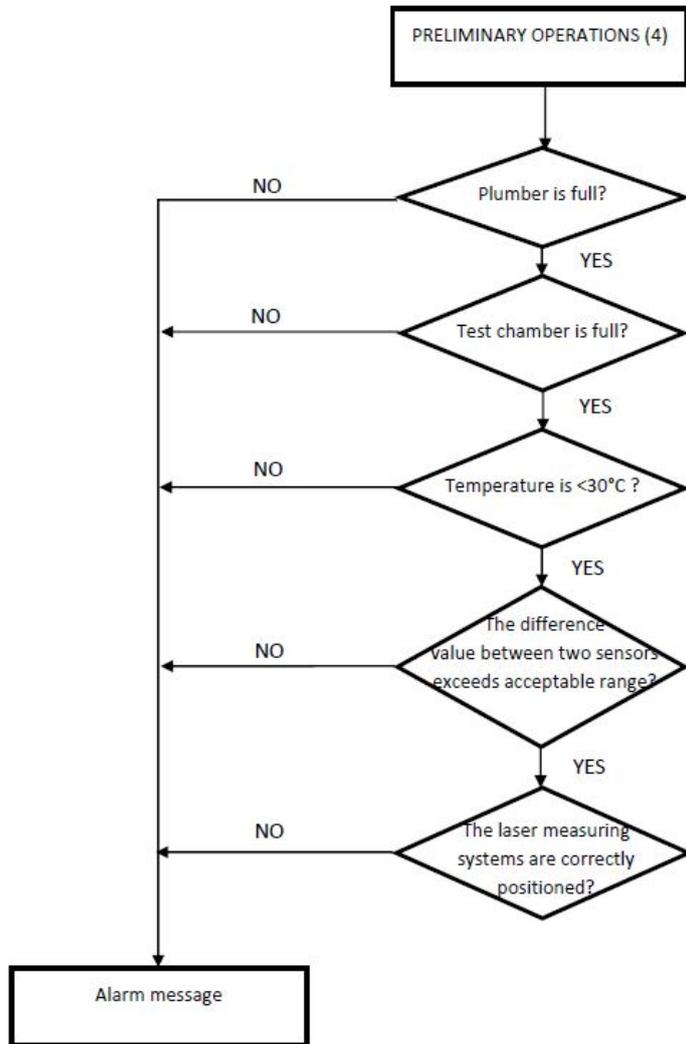
Maintenance flowchart



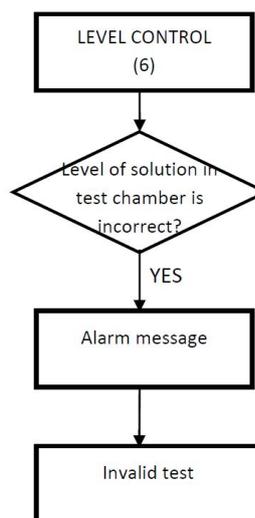
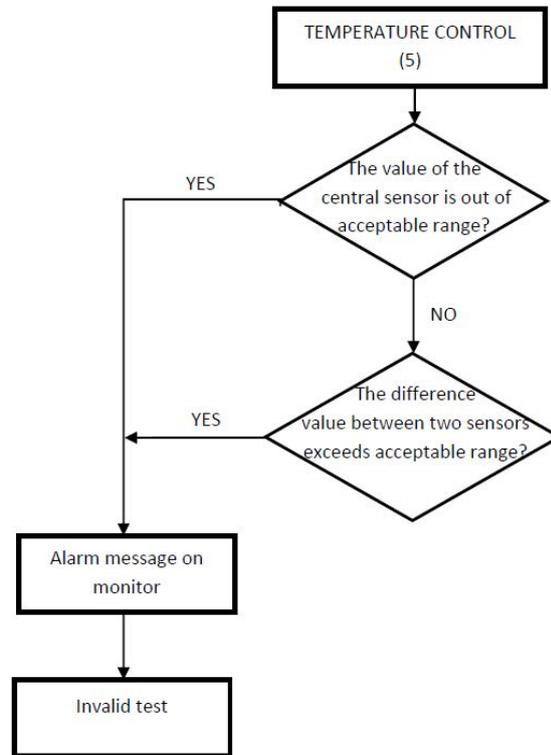
Calibration flowchart

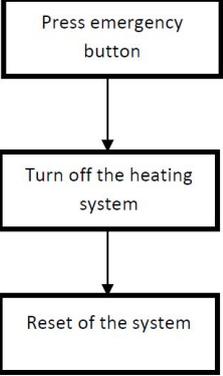


Preliminary operations flowchart



Controls and emergency flowcharts





CAPITOLO5

Documentazione

Per poter realizzare e mettere in funzione la macchina è stato necessario redigere una serie di documenti tecnici seguendo le direttive aziendali. La documentazione prodotta viene resa disponibile ai dipendenti dell'azienda mediante l'upload nel sistema aziendale: MasterControl.

Una volta prodotti i documenti e caricati in MasterControl essi vengono letti, verificati ed in caso approvati dalla sezione controllo qualità (QC). I documenti possono essere aggiornati e soggetti a revisione se necessario. Una volta ottenuta l'approvazione è possibile eseguire i protocolli che sono stati documentati e generare i rispettivi report. Di seguito vengono descritti i documenti che è stato necessario redigere per poter mettere in produzione e installare la macchina per Shrinkage test.

5.1 URS

Le *User Requirement Specifications* definiscono chiaramente le richieste che la macchina deve soddisfare, pertanto lo sviluppo di questo documento è demandato al richiedente e fa parte dell'accordo contrattuale. I requisiti anche se non sono inizialmente ben definiti possono essere sviluppati durante le varie fasi del progetto ma devono essere aggiornati non appena le informazioni diventano disponibili. Le URS tipicamente includono:

- Requisiti operazionali (calcoli, sicurezza e protezione, controllo degli accessi, piste di controllo, firme elettroniche, output, gestione degli

errori, ecc.)

- Requisiti sui dati, incluse le definizioni (formato, range di validità, accuratezza), sicurezza, integrità, archivio, backup, migrazione dati.
- Requisiti tecnici, inclusi i requisiti hardware, capacità di sistema, performance e sincronizzazione.
- Requisiti di interfaccia, inclusa l'interfaccia con l'utente finale, attrezzatura (sensori, attuatori, liste di input e output per il controllo di processo), altri sistemi.
- Requisiti ambientali, incluso il layout fisico dello spazio di lavoro (limitazioni di spazio, sicurezza), le condizioni fisiche (temperatura, umidità), requisiti elettrici (tensione, UPS).

Tutti i requisiti devono essere esposti chiaramente, in modo non ambiguo, devono essere realizzabili, misurabili e testabili. Nelle URS devono essere segnalati i requisiti che necessitano di priorità, identificare quelli obbligatori e quelli opzionali. [5]

Per la macchina *Shrinkage Temperature Test* sono state redatte le URS-0088 in cui sono state descritte:

- le specifiche generali e la descrizione dell'attrezzatura:
 - elementi hardware
 - camera di test
 - sistema idraulico
 - software
 - sensori
 - materiali
 - sistema di emergenza
- le specifiche funzionali dell'intera macchina: come deve funzionare e quali output deve produrre,

- i requisiti di interfaccia, con una descrizione dei livelli di accesso e degli allarmi,
- le specifiche software: controlli sui sensori, allarmi, sicurezza dell'operatore e protezione del programma,
- le specifiche per la trasmissione ed il salvataggio dei dati.

5.2 PFMEA

Il *Failure Mode and Effect Analysis* (FMEA) è una metodologia usata per analizzare le modalità di guasto o di difetto di un processo, prodotto o sistema. Tale analisi è eseguita preventivamente sulla base di considerazioni teoriche. La PFMEA è dunque un FMEA ma di processo. Nell'analisi dei guasti di ogni sottosistema occorre elencare tutti i possibili modi di guasto e per ciascuno:

- tutte le possibili cause
- tutti i possibili effetti
- tutti i possibili controlli per prevenire o rilevare il modo di guasto. [7]

Per ogni causa di guasto bisogna assegnare tre valori numerici:

- **O, occurrency:** è una scala che va da 1 a 6 ed indica la probabilità che l'evento possa accadere.
- **S, severity:** è una scala che va da 1 a 4 ed indica la severità del danno sul paziente, sul processo o sull'operatore che tale evento può causare.
- **D, detectability:** è una scala da 1 a 6 che indica la frequenza di non rilevazione.

$$RPN=O \times S \times D$$

Il prodotto di questi tre valori fornisce l'RPN che indica il livello di rischio dei vari casi di fallimento/guasto, ci sono tre possibili output: range accettabile - range tollerabile - range non accettabile. Questi ultimi due sono i casi in cui è necessario effettuare qualche azione, ad esempio:

5.2. PFMEA

- Validazione (IQ, OQ, PQ)
- Calibrazione iniziale e ricorsiva
- Training degli operatori
- Riprogettazione, nel caso in cui la mitigazione effettuata non abbassa l’RPN a valori accettabili.

Per la macchina *Shrinkage Temperature Test* è stato redatto il Risk Management Report (RMR), questo documento presenta tutte le informazioni rilevanti che riguardano i rischi associati e le attività di controllo necessarie per gestire la nuova macchina per Shrinkage test. Il documento contiene:

- Una descrizione generale della macchina.
- Una descrizione generale dei dispositivi a cui si applica.
- Una descrizione generale della macchina precedente.
- Una descrizione accurata della nuova macchina.
- In allegato la PFMEA.

Sono stati individuati 56 item di cui soltanto 7 sono risultati essere fuori dai limiti accettabili ed il loro livello RPN è stato abbassato mediante azioni di validazione e training.

Di seguito è riportata l’organizzazione del documento PFMEA con un esempio (Figura 5.1). Analizzando l’item 13, il potenziale fallimento è una scor-

Item No. / Function	Potential Failure Mode	Occur Item	Potential Cause(s) / Mechanism(s) of Failure	Potential Effect(s) of Failure	DET	Current Control Methods	SEV Item	RPN	Action(s)
2	Preparation of the sample	Wrong preparation of the sample	9	The sample is badly cut from the operator	Incorrect result. Inadequate fixation treatment with early SVD (structural valve deterioration).	NA	4	48	Training
			10	Wrong positioning of sample in the sample holder from the operator		NA	4	48	Training
			11	Sample is ruined when taken with pliers		Same pliers of the current equipment	5	45	NA
			12	Gripping of sample not correct from the operator		Same pliers of the current equipment	4	48	Training
			13	Insertion of sample when temperature is too high from the operator	Impossible to perform the test.	Mitigation by design: electro lock	2	2	NA

Figura 5.1: Struttura ed esempio PFMEA

retta preparazione del campione causata dall'inserimento del campione nella camera di test quando la temperatura è troppo alta, questo è un problema che poteva verificarsi con la precedente macchina in quanto non vi era alcun controllo se non l'indicazione a monitor del valore di temperatura, adesso invece non è consentita l'apertura delle porte fintanto che la temperatura non è bassa, inoltre la camera viene lasciata vuota a fine raffreddamento e quando si inizia un nuovo test la procedura prevede che venga prima eseguito il rabbocco automatico pertanto la temperatura della soluzione sarà necessariamente bassa tanto da non rovinare il campione. Per questo motivo l'Occurrency ha un valore basso, l'effetto del fallimento è che il test non viene eseguito perché le porte non sono aperte e dunque la Severity è bassa non essendoci alcun rischio per il paziente; il metodo attuale di controllo è l'elettroserratura controllata da una centralina stand-alone pertanto la Detectability ovvero la frequenza di non rilevazione ha un valore basso. Conseguentemente l'RPN ha valore 2 e non è necessaria alcuna azione di mitigazione.

5.3 Process Validation

Il processo di validazione consente di stabilire mediante prove oggettive che il processo costantemente produce un risultato o prodotto che soddisfa i requisiti e gli attributi di qualità predeterminati.

Tale processo può consistere in tutte o alcune delle seguenti fasi:

- Installation qualification (IQ)
- Operational qualification (OQ)
- Performance qualification (PQ)

5.3.1 IQ

L'installation qualification stabilisce tramite prove oggettive che tutti gli aspetti chiave dell'attrezzatura di processo e l'installazione di sistemi ausiliari aderiscono alle specifiche del fabbricante e di SGI-SAL e che le raccomandazioni del fornitore dell'attrezzatura sono state opportunamente considerate. Esempi:

5.3. PROCESS VALIDATION

- Condizioni di installazione (utilità, cablaggio, spazio, ecc.)
- Verifica dell'installazione (corretto assemblaggio e costruzione dell'attrezzatura)
- Documentazione dell'attrezzatura (disegni, schemi, liste di spunta, manuali, ecc.)
- Documentazione software
- Caratteristiche critiche dell'attrezzatura (materiale di costruzione, pulibilità, ecc.)
- Condizioni ambientali (temperatura, umidità, ecc.)
- Scheda di manutenzione preventiva
- Scheda e requisiti di calibrazione
- Identificazione delle operazioni di riparazione che richiedono una riqualificazione
- Pulizia iniziale
- Compatibilità dei materiali (compatibilità con il processo, pulizia, processi e soluzioni di sanitizzazione e sterilizzazione, ecc.)
- Materiali di costruzione
- Verifica della funzionalità dell'attrezzatura
- Risorse supplementari (elettricità, acqua, aria, pressione, spazio, ecc.)
- Adeguatezza e accuratezza dei sistemi di misura
- Funzionalità delle operazioni di base dell'attrezzatura [5]

L'IQ della macchina è stato organizzato come una check-list in cui sono elencate le varie verifiche sopra elencate, il metodo di verifica e i risultati attesi. Durante la validazione viene compilato un report che è costituito dalla stessa check-list e accanto ad ogni elemento viene riportato l'esito, la

data, l'orario e la firma.

Per lo *Shrinkage Test* è stato compilato il TP-10685 in cui sono stati inseriti i seguenti test:

- Verifica della presenza della documentazione tecnica e di calibrazione.
- Verifica conformità della connessione elettrica e della messa a terra.
- Verifica conformità con il disegno tecnico.
- Verifica riempimento del serbatoio e della camera di test.
- Verifica corretta esecuzione del test.
- Verifica sistema di emergenza.
- Verifica funzionamento delle valvole.
- Verifica sulle porte e accensione delle luci del semaforo.

5.3.2 OQ

L'operational qualification stabilisce tramite prove oggettive i limiti del processo di controllo e i livelli di azione che risultano in un prodotto che soddisfa i requisiti predeterminati per tutti i ranges operativi, incluse le condizioni di caso peggiore. Vengono svolte varie prove del processo variando i parametri in ingresso all'interno dei loro range di variabilità e si verifica che l'output sia sempre quello atteso. Esempi:

- Verifiche dimensionali
- Qualificazione del software
- Valutazione dell'impatto dei parametri chiave sul processo (DOE, test worst-case, ecc.)
- Allenamento e qualificazione degli operatori
- Verifica della documentazione di processo
- Profili di temperatura

Durante l'OQ gli strumenti di monitoraggio devono essere calibrati; se gli strumenti di misura possono essere influenzati negativamente dal test (ad es. sensori di temperatura esposti ad elevate temperature o condizioni avverse), devono essere calibrati prima e dopo il test. Devono essere testati alti e bassi parametri di processo per determinare se può essere controllato a tali limiti e se il prodotto continua a soddisfare i requisiti.[5]

OQ Hardware

È stato generato il documento TP-10687 con lo scopo di dimostrare che la macchina *Shrinkage Temperature Test* abbia performance costanti e coerenti. Bisogna eseguire una serie di prove per valutare:

- *Riproducibilità*: un diverso operatore o una diversa strumentazione realizzano la stessa operazione ottenendo lo stesso risultato.
- *Ripetibilità*: lo stesso operatore con la stessa strumentazione deve ottenere lo stesso risultato.

Il problema di questo test è che la prova è distruttiva, uno stesso campione non può essere testato più di una volta pertanto verranno eseguiti i test con campioni prelevati da una stessa pezza di pericardio, trattata allo stesso modo per poi effettuare un'analisi statistica dei risultati. In particolare verranno testati 240 campioni di pericardio di cui 80 freschi, 80 prefissati e 80 fissati. Di ogni gruppo di 80 campioni una metà saranno testati con la macchina precedente e gli altri 40 con la nuova attrezzatura; Il sistema deve essere in grado di distinguere tra i due tipi di fissazione e dare come "scartato" il pericardio fresco, i risultati ottenuti dalle due macchine saranno comparati statisticamente.

Viene anche effettuato un check funzionale:

- Verranno introdotti 10 sensori di temperatura, 8 accanto ad ogni postazione e due sui lati opposti a quelle facente parti dell'attrezzatura della macchina. Durante un intero ciclo i loro segnali saranno acquisiti e mappati nel tempo per valutare l'effettiva omogeneità di temperatura nella vasca e per valutare che effettivamente la temperatura aumenti di un grado al minuto.

- Verrà verificato che la scelta del numero di campioni su cui effettuare la media mobile non influenza negativamente i risultati.
- Verrà verificato che il sistema di guide ed il filo restino in equilibrio stabile e che muovendo i contrappesi e i portacampioni il filo resti rettilineo.

IQ-OQ Software

È stato generato il documento TP-10686 a cui sono state allegate due check-list una per l'IQ e una relativa all'OQ in cui sono elencate le varie verifiche da effettuare, il metodo di verifica e i risultati attesi. Questo documento serve per qualificare il software della macchina e l'HMI (Human Machine Interface). Alcune di queste verifiche riguardano le funzionalità di base della macchina, altre sono più complesse e legate ai possibili fallimenti identificati nella PFMEA. Durante la validazione viene compilato un report che è costituito dalla stessa check-list e accanto ad ogni elemento viene riportato l'esito, la data, l'orario e la firma. Verranno testati:

- Inizializzazione del sistema: accensione, autenticazione.
- Menù generale: verifica sugli accessi e schermate.
- Calibrazione: modifica di gain ed offset.
- Manutenzione: attivazioni manuali, report, modifica parametri di test, modifica utenti.
- Test: Operazioni preliminari, inserimento dati, fase di test, output, controlli durante il test.

5.3.3 PQ

Il performance qualification consente di stabilire tramite prove oggettive che il processo sotto le normali condizioni operative, costantemente fornisce un prodotto che soddisfa i prerequisiti. Esempi:

- Verifica della documentazione di processo

- Stabilità del processo
- Capacità di processo
- Errore di semina
- Adeguatezza del sistema di misura: bias e/o ripetibilità e riproducibilità del sistema di misura
- Valutazione delle performance di prodotto (impatto del processo nelle operazioni di follow-on, funzionalità del prodotto, proprietà materiali e fisiche, ecc.)
- Test di pulizia
- Test biologici
- Sterilità del prodotto
- Test con e senza equipaggio dell'ambiente controllato [5]

Per lo *Shrinkage Test* è stato generato il documento TP-10710 in cui vengono definite le modalità di test da eseguire per verificare che la macchina riesca a distinguere i due tipi di fissazione utilizzando pezzi di produzione. Verranno testati 160 campioni di pericardio, 80 prefissati e 80 fissati. I risultati di campioni prefissati presi dallo stesso lotto devono avere lo stesso risultato (accettato o scartato), i risultati di campioni fissati che hanno subito lo stesso trattamento di sagomatura devono dare lo stesso risultato (accettati o scartati).

5.4 Procedura operativa

Nelle fasi finali del collaudo, prima di iniziare la validazione è stato redatto un ulteriore documento, si tratta della procedura operativa QB-1067, in cui viene spiegato dettagliatamente il funzionamento della macchina. È descritta tutta la procedura di test necessaria agli operatori, i quali vengono anche addestrati mediante training affinché possano imparare ad utilizzare al meglio la nuova attrezzatura. Inoltre vengono descritte nei dettagli le pagine relative alla

5.4. PROCEDURA OPERATIVA

manutenzione e alla calibrazione per renderne facile l'utilizzo rispettivamente ai manutentori ed ai calibratori.

CAPITOLO6

Validazione

Prima di effettuare i test di validazione precedentemente definiti è stato necessario eseguire il collaudo della macchina, una prima fase di tale processo è stata condotta nell'azienda fornitrice Custom2.0, la seconda fase è avvenuta in LivaNova. Rispetto alla progettazione iniziale sono state effettuate delle modifiche:

- È stata progettata la struttura esterna trasparente come protezione per l'operatore e per la pulizia dell'attrezzatura;
- È stato aggiunto il semaforo che indica in verde l'esecuzione del test, in rosso l'emergenza e in rosso lampeggiante l'esecuzione del test con sicurezze disabilitate;
- Inizialmente il sistema di riscaldamento era costituito dalla sola piastra posta dietro la camera di test, ma durante il collaudo ci si è resi conto che il calore si concentrava in alto pertanto vi era una differenza di temperatura verticale di circa 8°C , si tratta di un valore non ammissibile, in quanto implica che le diverse zone di un campione di pericardio si contraggono a temperature diverse. Si è deciso allora di inserire otto resistenze sotto la camera, circa 15°C prima della temperatura di inizio test T_i , la piastra posteriore viene spenta e delle due resistenze centrali poste sotto la camera viene dimezzata la potenza. Questa modifica garantisce omogeneità di temperatura ed il suo corretto aumento nel tempo.

-
- In seguito alle modifiche soprastanti si è deciso di effettuare il controllo dell'omogeneità di temperatura e della rampa di salita solo dalla temperatura di inizio test T_i e non più dallo start, perché scaldando con tutte le resistenze accese si raggiunge la temperatura desiderata in minor tempo ma non sono garantiti né l'omogeneità né la rampa di salita che risulta essere di circa $2^\circ\text{C}/\text{min}$.
 - È stato aggiunto come poka-yoke un led sotto i grafici relativi alle 8 postazioni che diventa verde quando vengono inseriti i parametri per facilitare all'operatore le operazioni di inserimento dati campione.
 - Inizialmente si era scelto di usare un sensore di livello capacitivo per la camera di test ma è risultato inadeguato a leggere il livello di fluido attraverso il vetro temprato. È stato costruito un sensore che rilevava il passaggio di corrente dovuta agli ioni dell'acqua, ma è risultato inadeguato in quanto durante la fase di validazione bisogna utilizzare acqua deionizzata che in quanto tale non conduce e dunque era impossibile garantire la corretta esecuzione delle fasi di rabbocco e raffreddamento automatiche; per ovviare al problema si è scelto di utilizzare anche per la validazione soluzione fisiologica, ma essendo ricca di sali, il rame presente all'interno del sensore si è corroso. Infine è stato costruito un apposito sensore che lavora rilevando il passaggio di corrente e soltanto le due barrette di sensing in acciaio Inox vanno in contatto con la soluzione, il resto dei materiali costituenti il sensore risultano adeguatamente isolati.
 - La parte superiore dei contrappesi fatti di acciaio Inox sono stati soggetti a brunitura in quanto la loro superficie liscia rifletteva la luce dei sensori laser impedendo una corretta misura.

Per poter eseguire i test di validazione è necessario che tutti i sensori siano calibrati. Per quanto riguarda le tre sonde di temperatura (PT100) si è proceduto immergendole in un bagno di olio termocontrollato con un sensore di temperatura calibrato come riferimento, sono stati ricavati Gain ed Offset. Per poter calibrare i laser prima si è provveduto ad eseguire il loro "Teach"

ovvero gli vengono dati i suoi estremi, oltre i quali non è garantita la correttezza della misura, sono stati impostati 3mm e 23mm come valori minimo e massimo rispettivamente; è stato poi necessario creare dei blocchetti di misure note per poter ricavare la retta di calibrazione. Per fare ciò inizialmente si era pensato di usare i blocchetti Johnson ma le loro dimensioni ridotte non erano adeguate a stare sotto i contrappesi che conseguentemente si inclinavano e non potevano essere inseriti al di sopra dei contrappesi in quanto il loro materiale riflette la luce dei laser, è dunque stato richiesto all'officina di LivaNova di generare dei cilindretti con spessore noto per consentire la corretta calibrazione dei sensori laser.

6.1 Esecuzione dell'IQ

Durante l'esecuzione dell'*Installation Qualification* in accordo al *Test Plan* (TP-10685) precedentemente pianificato sono stati effettuati i seguenti controlli formalizzati nel TR-10685:

- Presenza della documentazione tecnica della macchina: disegni, diagrammi elettrici, diagrammi idraulici e manuale d'uso.
- Verifica che tutte le parti della macchina siano disposte come indicato nei disegni tecnici.
- Verifica dello stato di manutenzione, dell'esistenza del foglio di manutenzione e della lista dei pezzi di ricambio.
- Con un multimetro è stato verificato che il voltaggio fosse di $220\text{ V} \pm 10\%$ ed è stata verificata la messa a terra.
- La macchina è stata pulita con panno umido e acqua deionizzata.
- È stata verificata la presenza del foglio di calibrazione ed è stata effettuata la verifica di corretta calibrazione delle sonde di temperatura e dei sistemi di misura laser.
- Sono state verificate le funzioni base: accensione, spegnimento, funzionalità del monitor e del touch screen.

6.1. ESECUZIONE DELL'IQ

- È stata verificata la presenza e la funzionalità di tutte le connessioni:
 - Connessione tra serbatoio e rete aziendale di soluzione fisiologica.
 - Connessione tra serbatoio e camera di test.
 - Sono stati riempiti il serbatoio e la camera di test con soluzione per verificare che non ci fossero perdite.
 - Sono stati movimentati i fili che collegano i portacampioni ai contrappesi per verificare che mantengano la loro posizione.
- Inserendo soluzione fisiologica è stato verificato il corretto funzionamento del galleggiante nel serbatoio e del sensore di livello nella camera di test.
- È stato condotto un test standard utilizzando un solo campione di pericardio per verificare che tutte le fasi avvengano correttamente (rabbocco automatico, inserimento dati e campione, riscaldamento, test, raffreddamento automatico, salvataggio dati).
- È stato fatto partire un test e dopo qualche minuto è stato premuto il fungo di emergenza per verificare che il sistema di riscaldamento venisse disattivato.
- In modalità manutenzione sono state aperte le tre elettrovalvole (carico serbatoio, carico camera di test, scarico camera di test) per verificarne la funzionalità.
- È stato verificato il corretto funzionamento delle elettroserrature collegate alle porte e del semaforo:
 - Durante l'esecuzione del test le porte sono chiuse e la luce è verde.
 - Durante il raffreddamento quando la temperatura scende sotto i 35°C è possibile aprire le porte.
 - Con accesso in modalità amministratore, se le sicurezze sono disabilitate durante l'esecuzione del test, il semaforo ha la luce verde accesa e la rossa lampeggiante.

6.2. ESECUZIONE DELL'IQ-OQ SOFTWARE

Tutte le prove hanno avuto esito positivo, c'è stata solo una deviazione segnalata nell'apposito *Test Report* relativa alla verifica della connessione del serbatoio con la rete aziendale di soluzione fisiologica, in quanto inizialmente era previsto che la macchina venisse inserita in camera pulita ISO8 accanto a quella attualmente in uso, ma si è deciso di tenerla in un'altra sede dove non arriva la rete di soluzione, pertanto per riempire il serbatoio vengono utilizzate sacche di soluzione fisiologica attaccate ad una struttura appositamente costruita.

6.2 Esecuzione dell'IQ-OQ Software

Per quanto riguarda l'IQ del Software in accordo con l'allegato uno del TP-10686:

- È stato verificato che processore, RAM, Hard Disk e sistema operativo avessero caratteristiche uguali o superiori a quelle richieste.
- Sono state verificate tutte le connessioni di rete e la presenza di schede di rete aggiuntive.
- È stata verificata la presenza di materiali e file di installazione.
- È stata verificata l'esistenza del file di parametri e la presenza dei seguenti parametri:
 - Minima temperatura bagno
 - Massima temperatura bagno
 - Gradiente di temperatura
 - Massima deviazione di temperatura
 - Pendenza (x100)
 - Frequenza di campionamento
 - Numero di campioni media mobile
 - Frequenza di storicizzazione dati
 - Numero di campioni verifica pendenza

6.2. ESECUZIONE DELL'IQ-OQ SOFTWARE

- Soglia di sicurezza sulla temperatura
- Numero di campioni su cui verificare la monotonia
- Tabella di riferimento per i limiti di temperatura
- Parametri grafici
- Dati da inserire nei report
- È stata verificata l'esistenza del file di report e la presenza dei seguenti elementi da riportare:
 - Grafico temperatura-contrazione
 - Temperatura di Shrinkage calcolata
 - Esito
 - Data e ora
 - Nome operatore
 - Dati del campione
 - Posizione del campione
 - Gradiente di temperatura
 - Temperatura di inizio test
 - Allarmi apparsi durante il test
- È stata verificata l'esistenza del file di allarmi, e la presenza della seguente lista di allarmi:
 - Temperatura oltre il massimo livello consentito
 - Temperatura non omogenea
 - Rampa di salita non corretta
 - Portacampioni non correttamente posizionato
 - Porte aperte (inibisce lo start del test)
 - Bar code non corrispondenti al portacampioni o alla postazione corretti
 - Assenza di dati dal cDAQ

6.2. ESECUZIONE DELL'IQ-OQ SOFTWARE

- Mancanza di rete elettrica
- Perdita della connessione LAN
- È stato fatto partire un test, è stata estratta una sonda di temperatura per far scattare l'allarme sull'omogeneità ed è stato verificato che apparisse nella lista di allarmi con data, ora e dati di test.
- È stato verificato che tutte le cartelle usate per salvare file eseguibili, report, file di configurazione e di allarmi, siano non modificabili o eliminabili dagli utenti.

I *Test Cases* relativi all'installazione del software hanno dato esito positivo, non è stata registrata alcuna deviazione.

Per quanto riguarda l'*Operational Qualification* del software sono stati effettuati 120 test (in accordo all'allegato 2 del TP-10686) per poter verificare la corretta operatività del software in particolare sono stati testati:

- Inizializzazione del sistema: è stato verificato che girando l'interruttore generale e azionando il programma "Shrinkage" tutto il sistema si accende e viene richiesto il log in. È stato verificato che inserendo username e/o password errati appare un messaggio di errore e l'accesso è negato; inserendo le credenziali corrette appare il menù generale (Test - Manutenzione - Calibrazione - Esci).
- Menù generale: è stato verificato che inserendo le credenziali di tipo "UTENTE" si può accedere solo alla sezione di test; inserendo le credenziali di tipo "MANUTENTORE" si può accedere solo alla sezione di manutenzione; inserendo le credenziali di tipo "CALIBRATORE" si può accedere solo alla sezione di calibrazione; inserendo le credenziali di tipo "AMMINISTRATORE" si può accedere a tutte e tre le sezioni.
- Sezione Calibrazione: è stato verificato che accedendo a tale sezione appare la lista di sensori con i relativi Gain e Offset. È stato testato che modificando uno di tali parametri e cliccando "Salva" effettivamente il valore inserito viene salvato.

6.2. ESECUZIONE DELL'IQ-OQ SOFTWARE

- Sezione Manutenzione: è stato verificato che accedendo a tale sezione appaiono le sottosezioni: attivazione manuale, ristampa di report, parametri di test. Nel *Test Report* è stata inserita una deviazione, in quanto oltre alle sottosezioni sopra riportate ne sono state aggiunte altre: gestione utenti e lista allarmi.
È stato verificato che dal sinottico presente in "attivazione manuale" fosse possibile attivare le tre elettrovalvole e le resistenze di riscaldamento; È stata verificata la possibilità di poter modificare i parametri di test e di poter aggiungere/rimuovere utenti.
- Sezione Test: è stato verificato che accedendo a tale sezione appare la schermata con gli otto grafici temperatura-contrazione relativi alle otto postazioni e il grafico tempo-temperatura.
 - Operazioni preliminari: è stata verificata la corretta esecuzione delle operazioni preliminari:
 1. Verifica della temperatura iniziale (inferiore al valore minimo per iniziare una nuova prova).
 2. Verifica serbatoio pieno.
 3. Verifica camera di test piena.
 4. Verifica della corretta posizione dei contrappesi letta dai laser inseguito all'inserimento dei dati del campione.
 5. Verifica della chiusura delle porte (tranne per l'autenticazione di tipo "amministratore").

Una per volta sono state fatte fallire tutte le operazioni preliminari per verificare che apparisse il messaggio di allarme a monitor e per verificare che questo sparisse dopo aver risolto l'errore imposto.

- Inserimento dati: è stato verificato che quando tutte le operazioni preliminari sono state eseguite appare il messaggio "Inserimento parametri", che è possibile abilitare/disabilitare le postazione, che premendo "test" sotto il grafico desiderato viene richiesto l'inserimento dei dati del campione ed è possibile selezionare il tipo di fissazione. Inoltre è stato verificato che scannerizzando il bar code scorretto la lettura appare in rosso e non è possibile proseguire

6.3. ESECUZIONE DELL'OQ HARDWARE

fintanto che non viene scannerizzato il codice corretto. È stato verificato che dalla finestra riassuntiva fosse possibile tornare indietro e modificare i dati.

- Esecuzione test: è stato verificato che non fosse possibile premere "start" fintanto che le porte sono aperte; è stato verificato che premendo il fungo di emergenza dopo qualche minuto dallo "start" la prova si interrompe e il sistema di riscaldamento viene disattivato, premendo l'apposito tasto per disabilitare l'emergenza è stato possibile eseguire un normale test.
- Output: è stato verificato che eseguendo un test lasciando tutti i portacampioni vuoti l'esito è risultato negativo, i laser non hanno misurato alcuna contrazione e la temperatura calcolata è stata pari a zero.
- Controlli: è stato verificato che durante la fase di test rimuovendo una sonda di temperatura per farle leggere un valore molto diverso dalle altre, la prova viene interrotta e appare un messaggio di allarme a monitor. Nel *Test Plan* era stato deciso di verificare anche l'allarme relativo allo svuotamento della camera durante l'esecuzione di un test ma in seguito ci si è resi conto che si trattava di un controllo ridondante in quanto interviene prima l'allarme di temperatura essendo le tre sonde ad altezze diverse; pertanto nel *Test Report* TR-10686 è stata riportata una deviazione dovuta a questo controllo non effettuato.

6.3 Esecuzione dell'OQ Hardware

L'*Operational Qualification* relativa alla parte hardware è stata suddivisa in due parti: verifica funzionale e paragone con la vecchia macchina.

Per quanto riguarda la verifica funzionale sono state eseguite le seguenti verifiche in accordo al TP-10687:

- usando 10 sonde di temperatura calibrate, 8 accanto ad ogni postazione di test e 2 ai vertici opposti rispetto alle due laterali facenti par-

te dell'attrezzatura della macchina, è stata verificata l'omogeneità di temperatura mappando nel tempo i valori letti durante un intero test.

- per verificare che la scelta del numero di campioni su cui effettuare la media mobile non influenzasse negativamente i risultati è stato verificato che gli errori dovuti alla media fossero nei limiti accettabili.
- è stato verificato che durante la fase di test la temperatura cresce di $1^{\circ}C/min$.
- è stato verificato che facendo ruotare i portacampioni e/o i contrappesi i fili restano rettilinei e che il sistema di guide e fili resta in equilibrio stabile.

Per quanto riguarda il paragone tra nuova e vecchia macchina sono stati testati:

- 40 campioni di pericardio fresco sulla nuova macchina e 40 sulla vecchia;
- 40 campioni di pericardio prefissato sulla nuova macchina e 40 sulla vecchia (utilizzando il minimo tempo di trattamento);
- 40 campioni di pericardio fissato sulla nuova macchina e 40 sulla vecchia (utilizzando il minimo tempo di trattamento).

Il numero di campioni è stato scelto in accordo alle procedure aziendali, per avere una confidenza del 95% e un'accuratezza del 96%.

I campioni usati in uno stesso run sono stati ritagliati dalla stessa pezza di pericardio, di cui metà sono stati testati con la nuova macchina e l'altra metà con la vecchia; i risultati delle due sono stati considerati comparabili in quanto dall'analisi statistica si è ottenuto $R \geq 90$.

Al termine dei test è stato emesso il test report TR-10687.

6.4 Esecuzione del PQ

Non è stato possibile eseguire la fase finale di validazione della macchina a causa della chiusura estiva dell'azienda, in quanto questi test sono a carico del

6.4. ESECUZIONE DEL PQ

personale di produzione. Il Performance Qualification verrà svolto nei mesi successivi per verificare la corretta funzionalità della macchina in condizioni nominali.

Documenti Redatti

Di seguito è riportato un riepilogo dei documenti che è stato necessario redigere:

- URS-0088: User Requirement Specifications
- PFMEA: Failure Mode and Effect Analysis
- QB-1067: procedura operativa.
- TP-10685: Test Plan Installation Qualification.
- TR-10685 Test Report Installation Qualification.
- TP-10687 Test Plan Operational Qualification Hardware.
- TR-10687 Test Report Operational Qualification Hardware.
- TP-10686 Test Plan Installation e Operational Qualification Software.
- TR-10686 Test Report Installation e Operational Qualification Software.
- TP-10710 Test Plan Performance Qualification.

Bibliografia

- [1] FISILOGIA, Cindy L. Stanfield, EdiSES, Napoli, 2012
- [2] <https://it.wikipedia.org/wiki/Cuore>
- [3] <https://www.saperesalute.it/valvulopatie>
- [4] <https://it.wikipedia.org/wiki/Valvulopatia>
- [5] Informazioni estratte da materiale LivaNova
- [6] https://it.wikipedia.org/wiki/Valvola_cardiaca
- [7] <http://it.wikipedia.org/wiki/FMEA>