



Точка зрения

# Современное состояние и перспективные инновационные направления развития способов стерилизации биоимплантатов

Розанов В.В.<sup>1,2</sup> • Матвейчук И.В.<sup>2</sup>

**Розанов Владимир Викторович** – канд. физ.-мат. наук, д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотр. научного центра гидрофизических исследований физического факультета, профессор кафедры физики ускорителей и радиационной медицины физического факультета<sup>1</sup>; заведующий лабораторией научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий<sup>2</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3243-8782>; ResearcherID: E-5959-2017

✉ 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1/2, МГУ, физический факультет, Центр гидрофизических исследований, Российская Федерация. Тел.: +7 (495) 939 13 44. E-mail: vrozanov@mail.ru

**Матвейчук Игорь Васильевич** – д-р биол. наук, профессор, руководитель научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий<sup>2</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6220-4429>; ResearcherID: AAE-8495-2019

✉ 123056, г. Москва, ул. Красина, 2, НИЦ БМТ ФГБНУ ВИЛАР, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 254 46 49. E-mail: nizbmtvilar@gmail.com

Авторами проанализировано современное состояние способов стерилизации костных имплантатов. Проблема создания эффективных способов стерилизации биоимплантатов еще далека от оптимального решения и остается актуальной. Среди причин, ограничивающих дальнейшее развитие основных методов стерилизации биоматериалов, выделяется наличие ограничений, связанных с применением каждого из существующих способов в отдельности, а также использование технологий стерилизующего воздействия. Сравнительный анализ основных методик стерилизации биоимплантатов, используемых в медико-биологических приложениях (обработка оксидом этилена, радиационное воздействие, обработка влажным теплом, использование жидких сред, озонная стерилизация), позволяет сделать вывод о преимуществах применения радиационной стерилизации. Однако при таком выборе возникает дилемма: повышение дозы облучения усиливает стерилизационный эффект радиационной обработки, но в то же время приводит к многочисленным морфологическим изменениям тканей, ухудшению их механических характеристик, разрушению морфогенетических белков и, как прямое следствие, – к снижению эффективности процесса репаративного остеогенеза. В результате отмеченных изменений пластический материал может оказаться непригодным для клинического применения. Одним из реальных подходов к решению указанной проблемы представляется максимально возможное снижение дозы поглощения в процессе радиационной обработки биоматериалов, по крайней мере до величины порядка 15 кГр. Разработки авторов последних лет показывают, что

достижение такого результата может быть обеспечено путем использования комбинированных методик стерилизации, основанных на сочетанном воздействии на стерилизуемый пластический материал физических и химических факторов. При взаимном усилении стерилизующего воздействия этих факторов создаются предпосылки для их синергетического эффекта, а интенсивность воздействия каждого из факторов может быть снижена. Это позволяет уменьшить и степень вредного побочного действия каждого из них в отдельности при усилении суммарного эффекта. Успех поиска инновационных подходов к решению актуальных проблем стерилизации костных биоимплантатов, к разработке современных здоровьесберегающих технологий может быть обеспечен только благодаря объединению усилий специалистов смежных наук, что позволит создать прорывные технологии в области стерилизации и оптимизировать данный процесс при достижении его высокой эффективности.

**Ключевые слова:** биоимплантология, костная ткань, озон, стерилизация, радиационное воздействие

**Для цитирования:** Розанов ВВ, Матвейчук ИВ. Современное состояние и перспективные инновационные направления развития способов стерилизации биоимплантатов. Альманах клинической медицины. 2019;47(7):634–46. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-063.

Поступила 08.07.2019; доработана 06.11.2019; принята к публикации 07.11.2019; опубликована онлайн 22.11.2019

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; 119991, г. Москва, Ленинские горы, 1, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» Минобрнауки России; 117216, г. Москва, ул. Грина, 7, Российская Федерация



**Б**иологический пластический материал, используемый при проведении реконструктивно-восстановительных операций в травматологии, ортопедии, челюстно-лицевой, спинальной хирургии, при хирургических вмешательствах, связанных с заменой тех или иных фрагментов органов и тканей, должен удовлетворять различным специфическим условиям и требованиям, главным из которых можно считать непременно высокий уровень безопасности, исключающий возможность внесения любых инфекций в организм реципиента. В этой связи технологические процессы, обеспечивающие стерильность пересаживаемых имплантатов, постоянно находятся в центре внимания. Наряду с этим существует и другая задача, решению которой в настоящее время уделяется недостаточно внимания, – обеспечение безопасности персонала тканевых банков. Эти сотрудники находятся в постоянном контакте с биоматериалом на всех этапах изготовления биоимплантатов, начиная с момента заготовки и первичной обработки биоматериала.

При наличии жестких правил отбора донорского материала и обязательного контроля за их выполнением на практике всегда сохраняется высокая степень риска, связанная с исходным инфицированием донорских тканей, как костной, так и мягких, крови и костного мозга. При этом удаление костного мозга с последующим вымораживанием фрагментов кортикальной и спонгиозной костной ткани, по данным специальных исследований [1], не обеспечивает надежной нейтрализации вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Аналогичные данные имеются и по другим биотканям, например, по крови. А эксперименты по криоконсервации при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 17 недель реберных хрящей, взятых у умерших от СПИДа доноров, показали лишь некоторое снижение вирусной активности без надежных гарантий безопасности для будущих реципиентов [2].

Даже при заготовке тканей в стерильных условиях при исследованиях аллоимплантатов на стерильность выявляются микроорганизмы с низкой патогенностью (а у 3% и с высокой – главным образом кожные штаммы) [3]. Исходная обсемененность заготавливаемого биоматериала может быть вызвана многими неконтролируемыми факторами – от инфицирования донора до нестерильных условий обработки и изготовления имплантата. Следовательно, на всех стадиях технологического процесса необходимы как тщательный контроль, так и выбор адекватных методов обработки и стерилизации биоматериала.

Сложность практического решения проблемы достижения необходимого уровня стерильности имплантатов связана еще и с тем, что любое стерилизующее воздействие (гипертермия, химическая, радиационная обработка и др.) может приводить к определенным изменениям свойств и характеристик биологических тканей. В свою очередь, это может негативно сказаться на возможности их дальнейшего использования как пластического материала [4–8]. Вышесказанное касается как изменения архитектоники образцов, так и денатурации белковых структур биоимплантатов [9].

Вопросы стерилизации биоимплантатов вообще и костных имплантатов в частности регулируются в Российской Федерации рядом национальных государственных и межгосударственных стандартов. Государственный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 14602-99 устанавливает, что требования к стерилизации имплантатов должны соответствовать положениям раздела 9 ГОСТ Р ИСО 14630-2017. При этом в существующих стандартах (как национальных, так и межгосударственных) в первую очередь определяется допустимая степень стерильности для имплантатов с финишной стерилизацией. Эта величина устанавливается как вероятностная характеристика, а именно как «вероятность того, что микроорганизм может выжить независимо от степени проведенной обработки». Подразумевается, что эффективность уничтожения патогенных микроорганизмов, достигаемая с помощью физических и химических воздействий в процессе стерилизации медицинских изделий, может быть описана экспоненциальной зависимостью. В этом случае всегда существует определенная вероятность выживания некоторого количества патогенов. Стандарт устанавливает: «...для имплантатов с финишной стерилизацией, маркированных надписью «СТЕРИЛЬНО», теоретическая вероятность присутствия жизнеспособных микроорганизмов должна быть не более  $1 \times 10^{-6}$ ».

В дополнение к этому важно подчеркнуть, что стерильные изделия медицинского назначения и в частности биоимплантаты относятся к той особой категории продукции, уровень стерильности которой невозможно проверить у каждого изделия путем осмотра или испытания. В силу данной особенности устанавливается, что «процессы стерилизации должны подвергаться валидации перед использованием, а выполнение процесса должно постоянно контролироваться». Более того, в последней редакции межгосударственного



стандарта ГОСТ ISO 11135-2017, действующего с 1 сентября 2018 г., прямо указывается: «...экспозиция правильно валидированному и точно контролируемому процессу стерилизации не является единственным фактором, связанным с обеспечением надежной гарантии того, что продукт стерилен и в этом отношении пригоден к использованию по назначению». Именно поэтому уделено внимание еще нескольким факторам, включающим в себя:

- а) «микробиологическое состояние входящих сырьевых материалов и/или компонентов;
- б) валидацию и текущее управление любыми процедурами очистки и дезинфекции, используемыми с продуктом;
- в) управление окружающей средой, в которой продукт производится или перерабатывается, собирается и упаковывается;
- г) управление оборудованием и процессами:
  - ✓ управление персоналом и его гигиеной;
  - ✓ способы упаковки и материалы, в которые продукт упаковывается;
  - ✓ условия хранения продукта».

Все эти вопросы и процессы регулируются специальной серией стандартов ГОСТ Р ИСО 9000. Уместно перечислить нормативные документы, которыми следует руководствоваться при использовании основных видов стерилизации. Так, применение при стерилизации имплантатов оксида этилена регламентируется ГОСТ ISO 11135-2017. Если имплантаты стерилизуют методом радиационной обработки, применяются ГОСТ ISO 11137-1-2011 и ГОСТ ISO 11137-2-2011. При использовании технологии паровой стерилизации необходимо руководствоваться ГОСТ ISO 17665-1-2009 (см. ГОСТ Р 56893-2016/ISO/TS 17665-2:2009). Для случая стерилизации жидкими средами имплантатов, содержащих материалы животного происхождения, применяется ГОСТ Р ИСО 14160-2003. Если имплантаты стерилизуют любым другим методом стерилизации, должен применяться ГОСТ Р ИСО 14937-2012.

## Основные виды стерилизации биоимплантатов

Руководствуясь приведенным перечнем видов стерилизации, остановимся несколько подробнее на особенностях и характеристиках каждого из них.

### Обработка оксидом этилена

Стерилизация оксидом этилена – довольно старый, достаточно универсальный и весьма распространенный метод низкотемпературной

стерилизации. Несмотря на имеющиеся критические замечания, этот метод и сегодня еще охватывает половину рынка. К его неоспоримым преимуществам можно отнести высокую эффективность, низкую стоимость и применимость для самых разных материалов. Это также ни в коем случае не единственный метод стерилизации, который создает потенциальную опасность в месте работы, и, подобно другим методам, устранение этих опасностей не включает решения, которые могут подорвать смысл и прибыльность его использования [10]. Достоинства метода также включают высокую проникающую способность газообразного реагента. Эксперименты показывают, что лиофилизированная губчатая и кортикальная кость не создают барьера для быстрой диффузии газа [11]. Некоторые исследователи считают, что для более эффективного проникновения окиси этилена в пористую структуру костной ткани целесообразно предварительно произвести ее очистку путем обезжиривания и сублимационной сушки [12]. При этом, по их мнению, удастся несколько снизить и отрицательное действие оксида этилена через уменьшение остаточного уровня содержания этиленоксида и его токсичных побочных продуктов после стерилизации. Вообще при реализации данной технологии уровню остаточного содержания оксида этилена в готовом изделии уделяется особое внимание. Эта величина должна быть не выше значения, установленного в специальном стандарте ГОСТ Р ИСО 10993-7-2009.

В целом вся процедура стерилизации биоимплантатов оксидом этилена жестко регламентирована положениями соответствующего стандарта (ГОСТ ISO 11135-2017). На подготовительном этапе в обязательном порядке проводится планирование процедуры стерилизации с определением целого ряда важных параметров, таких как температура, влажность, бионагрузка, время аэрации, целесообразность использования биологического индикатора для аттестации оборудования, текущего контроля и др. При необходимости для обеспечения оптимальных условий технологического процесса рекомендуется проводить предварительное кондиционирование обрабатываемого образца (выдерживание в условиях определенной температуры и влажности) для уменьшения продолжительности цикла стерилизации. Затем в камере стерилизатора выполняется обработка стерилизуемой загрузки с соблюдением равномерности распределения оксида этилена в объеме камеры, стабильности параметров (давления, температуры) в процессе



всего цикла обработки. На завершающей стадии в связи с высокой токсичностью стерилизующего агента особое внимание уделяется тщательному проведению цикла аэрации – выведения остаточного реагента из пористого объекта стерилизации. Процесс осуществляется с применением последовательных циклов понижения давления (вакуумирования) в стерилизационной камере и последующего заполнения ее стерильным воздухом. Процесс заканчивается загрузкой продукции в стерильную упаковку.

Как следует даже из такого краткого описания технологии стерилизации оксидом этилена, устанавливаемого в ГОСТ 11135-2017, этот процесс – достаточно сложный, многоступенчатый и длительный. Все выполняемые процедуры подробно прописаны и четко регламентированы, начиная от подготовки оборудования и заканчивая контролем за степенью стерилизации и обеспечением безопасности персонала. Опыт применения имплантатов, стерилизация которых осуществлялась по такой методике, свидетельствует о достаточно надежной стерильности пластического материала. Тем не менее отрицательные эффекты все же есть и их необходимо учитывать, хотя по этому вопросу существуют различные мнения.

С одной стороны, как уже отмечалось выше, метод газовой стерилизации с использованием оксида этилена сегодня занимает практически половину мирового рынка стерилизации оборудования, инструментария, изделий биомедицинского назначения. При этом положительные отзывы о его использовании датируются не только девяностыми годами прошлого века [13, 14], есть и совсем современные, основанные на результатах последних исследований, например, по поиску решения проблем использования эндоскопического оборудования [15]. Существует мнение, что несмотря на высокую токсичность используемого рабочего вещества, этот метод более безопасен и меньше повреждает ткани, чем автоклавирование или радиационное воздействие, и весьма эффективен для инактивации антигенных структур HBV, HCV и HIV в биоимплантатах. В вопросе влияния газовой стерилизации оксидом этилена на сохранность морфогенетических белков в костных имплантатах также нет единства и существуют прямо противоположные точки зрения [16, 17]. Ряд исследователей уверенно заявляют, что оксид этилена не только токсичен, но и способен вызывать иммунное отторжение имплантатов и даже мутагенный эффект у растений, бактерий и лабораторных животных [18]. Вместе

с тем и сегодня, в XXI веке, сторонники метода в некоторых странах (к примеру, в Польше) продолжают утверждать, что стерилизация оксидом этилена является наиболее универсальным и распространенным методом низкотемпературной стерилизации, который характеризуется высокой эффективностью, низкой стоимостью и пригодностью для широкого спектра материалов, а по степени его потенциальной опасности вполне сравним с другими технологиями [10].

#### Радиационная стерилизация

Использование ионизирующего излучения для целей стерилизации в последние десятилетия получает все более широкое распространение [4, 7]. Общий объем этих услуг в мире в стоимостном выражении занимает сегодня место, сопоставимое с долей стерилизации оксидом этилена. При этом радиационная обработка обладает рядом несомненных достоинств. Во-первых, это низкотемпературная технология, что крайне важно для биологических материалов; во-вторых, ее характеризует высокая проникающая способность и возможность обрабатывать материалы, помещенные в герметичную упаковку, которая не допускает вторичное инфицирование биоимплантатов, подвергающихся радиационному воздействию. Главным параметром такого воздействия является величина поглощенной дозы. В Российской Федерации, как и в большинстве стран, оптимальной считается доза в 25 кГр, что соответствует рекомендациям МАГАТЭ. Для обоснования именно такого значения был выполнен большой цикл специальных исследований [19]. Однако в некоторых банках тканей Европы и Америки такая доза считается недостаточной и приняты значения в 30 кГр и даже выше. Но и доза в 25 кГр весьма высокая и может приводить к существенным деструктивным изменениям тканей [20, 21].

Учитывая это, на всех стадиях изготовления имплантатов необходим тщательный промежуточный контроль, порядок которого регламентируется соответствующим государственным стандартом (ГОСТ Р ИСО 13485-2004).

В настоящее время преобладают комплексы радиационной стерилизации, основанные на постоянных источниках гамма-излучения. При этом интенсивно растет количество установок, где в качестве излучателей используются линейные ускорители электронов.

Наиболее простым и относительно недорогим считается метод с неподвижным источником гамма-излучения, в качестве



которого обычно используется радиоактивный изотоп  $^{60}\text{Co}$ . В заводских условиях пеналы с радиоактивным изотопом помещают в специальные гамма-ячейки, через которые проходят стерилизуемые продукты, упакованные в герметичную тару. Обработка продолжается несколько часов, в течение которых обеспечивается получение необходимой поглощенной дозы. При этом обязателен контроль за уровнем активности изотопа, который характеризуется определенным временем полураспада.

Промышленные установки для стерилизации, использующие ускорители электронов высокой мощности, привлекательны тем, что их пропускная способность очень высока, а стоимость обработки на единицу продукции часто оказывается конкурентоспособной с традиционно используемыми методами химической стерилизации.

Появление в последние годы электронно-лучевых ускорителей следует рассматривать в качестве возможной альтернативы в радиационной стерилизации, так как они обладают рядом преимуществ по сравнению с источниками гамма-излучения, такими как: отсутствие проблем хранения, транспортировки и использования радиоактивных материалов; возможность сопряжения с процессом производства для непрерывной обработки; высокая производительность.

Для ускорителей электронов, которые используются для радиационной стерилизации, принята следующая классификация:

- низкоэнергетические: ускорители с энергией в диапазоне 400–700 кэВ, ширина луча от 0,5 до 1,5 м. Применяются для стерилизации поверхности тонких пленок, покрытий поверхности древесины и т.д.;
- среднеэнергетические: ускорители в диапазоне энергий от 1 до 5 МэВ. Данный тип ускорителей может обеспечить луч шириной от 0,5 до 1,8 м;
- высокоэнергетические: ускорители с энергией в диапазоне от 5 до 10 МэВ обеспечивают высокое проникновение и лучше всего подходят для массового облучения продукта. Данный тип ускорителей может обеспечить луч шириной до 1,8 м. Глубина проникновения электронов с энергией 10 МэВ обычно составляет 50 см (при облучении с обеих сторон) при плотности продукта порядка  $0,2 \text{ г/см}^3$ . Эта категория ускорителей обычно используется для медицинской стерилизации продукта, пищевой дезинсекции, очистки сточных вод.

Для облучения костных имплантатов лучше всего подходят высокоэнергетические

ускорители, поскольку обеспечивают достаточную глубину проникновения. Соединительные ткани имплантатов – кости, хрящи, сухожилия, связки – имеют неоднородности по молекулярному составу. В связи с этим должна быть максимальная проникающая способность при разумных дозах – в пределах 20 кГр.

Однако существующие методы не позволяют обеспечить идеальные условия стерилизации.

Любое радиационное воздействие на биологические ткани приводит не только к уничтожению патогенных микроорганизмов, но и к целому ряду нежелательных эффектов. В первую очередь следует указать на классический радиолит, происходящий в тканях при наличии в них воды. Процесс этот сопровождается разложением химических соединений. Продуктами радиолита являются свободные радикалы, перекисные радикалы с высокой реакционной способностью. Происходит формирование радиотоксинов, при взаимодействии свободных радикалов с белковыми молекулами нарушается структура белка, что, в свою очередь, может приводить к нарушению гормональной, рецепторной, ферментативной и других функций белка. Излучение негативно влияет и на мембранные структуры клеток.

Не менее существенны изменения, производимые ионизирующим излучением на макроуровне. При радиационном воздействии на биоткани *in vivo* эти изменения отмечаются уже при крайне малых поглощенных дозах. Результаты цикла комплексных исследований таких проявлений изложены в работе [22], где убедительно показано, что, начиная с дозы в 9 Гр, отмечаются первые структурные изменения. Выраженная rareфикация костной ткани, формирование микропереломов, образование грыж Шморля в позвонках, нарушение микроциркуляции в тканях, изменение структуры стенок сосудов – вот далеко не полный перечень морфологических и физиологических изменений и нарушений под действием ионизирующего излучения в тканях и органах живого организма. Следует также отметить, что те или иные эффекты могут проявляться не сразу после воздействия излучения, а через различные промежутки времени – от нескольких дней до нескольких лет.

Исследования разных авторов [4, 21, 23–25] показывают, что при воздействии *in vitro* изменения в тканях и различные морфофункциональные нарушения возникают при значительно (на 3 порядка) больших значениях поглощенной дозы. Отмечается, в частности, выраженная фрагментация коллагеновых волокон,



расщепление коллагеновых пучков, а при больших значениях дозы (25–60 кГр) – деструктивные изменения ткани с ее локальной гомогенизацией, разрушением волокон эндо- и перитенония, оплетающих коллагеновые пучки. Выраженные изменения свойств и характеристик биотканей наблюдаются как при воздействии гамма-облучения, так и при использовании пучков быстрых электронов. Существенно изменяются и механические характеристики тканей – уменьшается прочность при сжатии (до 35% при дозе 28 кГр) и растяжении (до 10% при дозе 35 кГр) [25]. Прочность на изгиб снижается на 11% при дозе 17 кГр, на 22% – при 30 кГр и даже до 65% при дозе в 65 кГр. С более подробным анализом этих и других изменений можно ознакомиться в обзоре [21]. Главный вывод, который можно сделать из этого анализа, состоит в том, что ионизирующее излучение является эффективным методом стерилизации биоматериалов, однако при высоких дозовых нагрузках, начиная с величины поглощенной дозы в 15 кГр, радиационное воздействие приводит к существенным морфофункциональным изменениям биологических имплантатов, и, следовательно, необходимо стремиться к максимально возможному снижению дозовой нагрузки (ниже 15 кГр), что позволяет сохранить характеристики биотканей. В то же время есть данные о том, что необходимую степень стерильности костных имплантатов в ряде случаев можно получить и при поглощенной дозе в 11 кГр [26].

#### Обработка влажным теплом

Технологии стерилизации изделий медицинского назначения, использующие влажное тепло, известны и практически применяются на протяжении не одного десятилетия. Эффективность стерилизационного воздействия при этом определяется оптимальным сочетанием двух основных параметров – температуры и продолжительности воздействия. Примеры комбинации минимальных рекомендуемых значений этих параметров приведены в ГОСТ Р 56893-2016/ISO/TS 17665-2:2009: при температуре 121 °С требуется обработка в течение 15 минут, при 126 °С – 10 минут, а при повышении температуры до 134 °С достаточно 3-минутной обработки.

В данном стандарте особо подчеркивается, что «все перечисленные комбинации базируются на концепции «полной гибели» с фактором безопасности, который был установлен для насыщенного пара или воды, имеющих контакт с микроорганизмом». При этом акцентируется

внимание на двух аспектах, связанных с эффективностью и безопасностью методики. Первый касается перегретого пара, который, как установлено, не обеспечивает дополнительных гарантий стерилизации, а, напротив, «ведет себя в большей степени подобно сухому воздуху (газу) и имеет низкую микробицидную активность по сравнению с насыщенным паром». Второй аспект относится к примесям, которые могут содержаться в стерилизующем агенте из-за наличия в воде, которую нагревают и превращают в пар, либо попадать в воду при контакте с материалами и поверхностями при выпаривании и подаче пара в стерилизатор. В любом случае наличие таких токсичных примесей должно контролироваться на всех этапах процесса, включая утилизацию отработанной жидкости.

Важен и параметр давления, так как необходимая температура может быть зачастую достигнута лишь при повышении давления. В различных справочных руководствах приводятся следующие средние цифры, характеризующие температуру водяного пара при кипении воды при различных значениях давления: при 1 атм – 120 °С, при 1,5 атм – 127 °С, при 2 атм – 134 °С. Соответственно, при использовании автоклавов длительность процесса стерилизации должна составлять при давлении 1 атм – 1 ч, при 1,5 атм – 45 мин, а при 2 атм – 30 мин. Однако такая обработка рекомендована для металлических и изделий медицинского назначения. Такое длительное высокотемпературное воздействие на биологические ткани сопряжено с деструктивными последствиями, связанными как с процессами денатурации белка, так и с возможными деформациями и локальными нарушениями структуры.

Вместе с тем имеются сообщения [27] о достаточно успешном применении паровой стерилизации при преобладающем мнении, что паростерилизованная кость обладает низкой механической стабильностью и ограниченной оссификацией, основанной на ремоделировании костной ткани с низкой деформацией. При этом существуют и оптимистические мнения относительно возможности тепловой инактивации ВИЧ-инфекции в аллоимплантатах при специальном режиме обработки [28, 29] с сохранением пластических свойств материала. Для инактивации вирусов в костных имплантатах предложен метод автоклавирования в течение 30 минут при температуре 134 °С. Тем не менее широкого распространения данные разработки не получили.



Стерилизация с использованием жидких сред  
Использование разнообразных жидких сред в качестве стерилизующего агента нашло более широкое применение в практике банков тканей. Эти методики неоднократно подвергались справедливой критике со стороны специалистов. В общем случае относительно процессов стерилизации медицинских изделий, содержащих материалы животного происхождения, соответствующий государственный стандарт (ГОСТ Р ИСО 14160-2003) содержит прямое указание на то, что «жидкие химические стерилизующие средства, традиционно используемые для стерилизации животных тканей в медицинских изделиях, могут быть неэффективны для инактивации патогенных агентов трансмиссивных губчатых форм энцефалопатий...». Тем не менее существует и положительный опыт стерилизации костных имплантатов с использованием жидких сред [30], свидетельствующий о том, что в этих случаях эффективная стерилизация сопровождалась сохранением исходных морфомеханических характеристик костных фрагментов.

#### Озоновая стерилизация

Особого внимания заслуживает описание технологии стерилизации с использованием озона. Известно, что озон характеризуется мощным стерилизующим действием.

Первые попытки медицинского использования озона предпринимались еще в XIX веке, о чем свидетельствует выданный в 1896 г. Николе Тесле патент на первый генератор озона. Начиная с 1910 г. он наладил их выпуск для медицинских целей.

В начале 30-х гг. XX века стартовало медицинское применение озона в Европе. В настоящее время он широко используется в косметологии, дерматологии, травматологии и ортопедии, ангиологии, гинекологии, гастроэнтерологии, проктологии, ревматологии, урологии, стоматологии, хирургии и др.

Заслуживает внимания тот факт, что в 1972 г. было создано Европейское медицинское общество по применению озона в профилактике и терапии, а в 1992 г. – Ассоциация российских озонотерапевтов, члены которой за прошедшие годы выполнили большой объем научных исследований по изучению механизмов действия озона на организм человека и животных, разработали научно обоснованные технологии использования озона в медицине, утвержденные Минздравом России.

Значителен антибактериальный и противовирусный эффект применения озона, использованный медиками во время военных действий. В определенных концентрациях он является дешевым и эффективным дезинфицирующим средством, экологически безопасным. Не случайно в 2001 г. FDA (Food and Drug Administration – Федеральное управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США) официально удостоило озон статуса GRAS (признанный безвредным), которым маркируются лекарства и пищевые продукты.

Основные характеристики и возможности выпускаемого сегодня оборудования для озонной стерилизации можно проиллюстрировать на примере продукции отечественной фирмы ООО «Орион-Си» [31, 32] – портативном озонаторе «Орион-Си» (ОП1-М). Он позволяет получать на выходе озono-кислородную смесь с концентрацией озона не менее 250 мг/м<sup>3</sup> с максимальной производительностью не менее 6 г/ч, осуществлять экспресс-дезинфекцию и экспресс-стерилизацию. Другой пример – многофункциональный озonoвый стерилизатор «Орион». Он обеспечивает экспресс-стерилизацию медицинских инструментов, оборудования и изделий с использованием специальных камер-боксов объемом от 0,7 до 250 л. Отсоединенный от камеры-бокса аппарат осуществляет деконтаминацию окружающей среды.

Озон известен как эффективный окислитель, способный уничтожать множество видов бактерий, вирусов, токсинов. Он окисляет фенолы, пестициды, действуя быстрее и эффективнее хлора. Озон способен убивать такие опасные микроорганизмы, как *Escherichia coli*, *Listeria*, *Streptococcus faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis* и многие другие.

Известно, что его бактерицидное действие проявляется, начиная с ничтожных концентраций в дезинфицирующем растворе – всего несколько микрограммов на литр воды. Не менее эффективно действие озона и в газовой фазе.

Такие уникальные возможности озонной стерилизации экспериментально подтверждены в цикле исследований, одним из результатов которых стала запатентованная сотрудниками научно-исследовательской лаборатории биомедицинских технологий (совместная лаборатория НИЦ БМТ ФГБНУ ВИЛАР и МГУ им. М.В. Ломоносова) технология изготовления костных имплантатов [33], составной частью которой является осуществление предварительной и окончательной (финишной) стерилизации костных фрагментов



озоно-кислородной смесью. Применение озоновой стерилизации на этапе заготовки и механической обработки фрагментов кости обусловлено необходимостью обеспечения безопасности персонала банка тканей, контактирующего с биологическим материалом до завершающего этапа изготовления имплантатов.

Вопрос оптимизации параметров процесса озоновой стерилизации биоимплантатов заслуживает отдельного рассмотрения. Все известные способы и устройства для газовой стерилизации медицинского инструментария, образцов биотканей, биоимплантатов работают в соответствии с заранее заданным режимом обработки. Его параметры – концентрация реагентов, продолжительность обработки и др. – устанавливаются на основе предварительных экспериментов, которые должны учитывать ряд факторов: особенности обрабатываемых объектов, виды и степень их обсемененности, параметры режимов обработки, включая температуру, влажность, продолжительность воздействия и пр. Учитывая возможность наличия на практике множества различных вариантов, для обеспечения гарантированно высокой степени эффективности процесса стерилизации параметры процесса необходимо выбирать с достаточным «запасом прочности». Но реализация такого подхода неизбежно связана с дополнительными затратами времени, энергии, реагентов, создает неизбежную повышенную нагрузку на стерилизуемый объект, что может негативно отразиться на морфофункциональных характеристиках, остеоиндуктивных свойствах биоимплантатов.

Для оптимизации процесса озоновой стерилизации авторами было предложено технологическое решение, которое позволяет оптимизировать процесс стерилизации, не устанавливая конкретное время обработки, а определяя момент достижения стерильности объекта по мере приближения к запрограммированному значению концентраций на входе и выходе стерилизационной камеры. Предлагаемый подход позволяет, с одной стороны, автоматически учитывать влияние текущих внешних параметров – температуры, влажности, освещенности, флуктуации концентрации смеси, с другой – обеспечить экономию временных и энергетических затрат в процессе стерилизации. При этом обеспечивается сохранение остеоиндуктивных свойств образцов, морфологическая и биопластическая неизменность стерилизуемых объектов, возможность использования для массовой заготовки имплантатов из компактного и губчатого вещества

кости под постоянным контролем разницы концентраций озоно-кислородной смеси на входе и выходе стерилизационной камеры. Допустимое значение пороговой разницы в концентрациях устанавливается с учетом скорости естественной диссоциации молекул озона. Созданное устройство защищено патентом Российской Федерации [34].

В отдельных исследованиях получают свое развитие и другие методики стерилизации биоимплантатов с использованием различных физических и химических факторов, таких, например, как микроволновое и ультрафиолетовое облучение, криообработка, воздействие низкотемпературной плазмы, насыщение лекарственными средствами и др. [4, 35, 36].

Комбинированные методики стерилизации  
Сравнительная оценка перечисленных выше основных методов стерилизации дает общее представление об их достоинствах и недостатках (таблица).

Рассмотрение совокупности приведенных параметров и характеристик данных методик стерилизации биоимплантатов позволяет сделать вывод о преимущественном использовании технологии радиационной стерилизации. Однако при ее применении возникает дилемма – повышение дозы облучения усиливает стерилизационный эффект радиационной обработки, но в то же время способствует многочисленным морфологическим изменениям тканей, ухудшению их механических характеристик. Кроме того, увеличение радиационной дозы может приводить к разрушению морфогенетических белков и, как прямое следствие, – к снижению эффективности процесса репаративного остеогенеза [6, 21]. В результате может возникнуть ситуация, когда пластический материал в силу отмеченных морфологических и биохимических изменений может оказаться непригодным для клинического применения. Таким образом, было бы предпочтительно максимально возможно снизить дозу поглощения в процессе обработки биоматериалов – по крайней мере до величины порядка 15 кГр.

Разработки последних лет показывают, что достижение такого результата принципиально возможно при использовании комбинированных методик стерилизации, основанных на воздействии на стерилизуемый пластический материал совокупности физических и химических факторов. В том случае когда удастся получить взаимное усиление стерилизующего воздействия





## Сравнение характеристик различных методов стерилизации

Метод стерилизации	Недостатки метода, его ограничения	Достоинства метода	Источники литературы
Оксид этилена	Высокая токсичность реагента, побочных продуктов обработки Значительная опасность для окружающей среды, персонала Необходимость дополнительной обработки для пористых материалов Необходимость тщательной очистки и аэрации после стерилизации Длительность и многоступенчатость технологического процесса Возможность побочных эффектов (иммунное отторжение имплантатов, мутагенный эффект у лабораторных животных)	Низкотемпературная технология Высокая эффективность Низкая стоимость Применимость для широкого круга материалов Хорошее проникновение в пористые структуры	[10–18]
Радиационная стерилизация	Высокая стоимость оборудования Высокие требования к обеспечению защиты от ионизирующего облучения персонала, окружающей среды Большая длительность производственного цикла (для гамма-облучения) Возможность негативного влияния продуктов радиолиза, радиотоксинов на белковые структуры Изменения (при высоких значениях поглощенной дозы) структуры и свойств биоимплантатов	Низкотемпературная технология Высокая проникающая способность Возможность обработки изделий в герметичной упаковке Высокая производительность обработки (при использовании пучков быстрых электронов)	[4, 6, 19–26]
Паровая стерилизация (автоклавирование)	Высокотемпературный метод Не применим для термонеустойчивых биоимплантатов Требует строгого контроля состава и характеристик используемого пара	Простота, доступность метода Низкая стоимость технологического процесса Безопасность для окружающей среды Кратковременность процесса Отсутствие токсичности	[27–29]
Жидкие среды (формальдегид)	Потенциальная опасность для персонала, окружающей среды (токсичность, канцерогенность, аллергенность) Низкая производительность Длительность процесса Эффективен не для всех видов патогенов	Низкотемпературная технология Низкая стоимость Сохранность исходных морфомеханических характеристик обрабатываемых объектов	[30]
Озоновая стерилизация	Невозможность стерилизации упакованных изделий	Низкотемпературная технология Высокая эффективность воздействия на различные патогены Низкая токсичность Безопасность для окружающей среды Кратковременность процесса Низкая стоимость Хорошее проникновение в пористые структуры	[5, 31–34]

этих факторов, создаются предпосылки для синергетического эффекта их взаимного действия. При этом интенсивность воздействия каждого из факторов может быть снижена, благодаря чему уменьшается степень вредного побочного действия каждого из них в отдельности при усилении суммарного эффекта.

Рассматриваемый подход, апробированный группой авторов с учетом детального анализа опыта многочисленных предшественников – как исследователей, так и практиков, позволил заключить, что существенной особенностью и главным ограничением основных методов

стерилизации биоимплантатов является «одноэтапность процедуры стерилизации и однородность (химическая или физическая) применяемых для этого средств» [37]. В качестве возможного варианта выхода из этой ситуации был испытан способ стерилизации образцов в два этапа.

На первом этапе осуществляли химическую обработку костных фрагментов (как нативных, так и деминерализованных) в растворе, содержащем семидесятипроцентный этанол (15% по массе), димексид (10%), тимол (0,25%), остальное – дистиллированная вода. Процесс обработки



осуществляли в течение 24 часов при температуре 7 °С. Затем трансплантаты извлекали из стерилизационного раствора, проводили дегидратацию (промакивание салфетками), герметично упаковывали в стерильную тару и помещали в морозильную камеру, где хранили при температуре -70 °С.

На втором этапе замороженные трансплантаты подвергали радиационной обработке гамма-квантами от источника <sup>60</sup>Со и снова помещали в морозильную камеру до момента клинического применения. При этом, по утверждению авторов, достигалась достаточная эффективность процесса стерилизации при дозе радиационного облучения в 12 кГр. Такая дозовая нагрузка не влияла на эффективность репаративного остеогенеза пластического материала. По мнению авторов, «техническим результатом изобретения являются: а) значительное снижение уровня радиоактивного облучения трансплантатов (с 2,5 до 1,2 Мрад), что способствует лучшему сохранению их морфологических и биопластических качеств; б) усиление стерилизующей активности способа за счет комбинированного использования гамма-лучей и антисептических средств химического происхождения» [37].

Показательно, что эффект снижения дозы облучения весьма значителен. Однако и это техническое решение не лишено существенных недостатков. Во-первых, для химической обработки на начальном этапе комбинированной стерилизации используется раствор со значительным содержанием воды. Присутствие ее в растворе, а соответственно, и в костном образце, создает существенные проблемы при последующей радиационной стерилизации. После такой обработки необходимо тщательное высушивание образца, а затем его глубокое вымораживание. Наличие воды в костной ткани может приводить к нежелательным побочным процессам гидролиза при радиационном воздействии. Во-вторых, следует обратить внимание на температурные режимы не только в процессе радиационной обработки, но и в ходе роста и инкубации бактерий, так как это может быть существенным фактором, влияющим на эффективность стерилизующего действия излучения [38].

Указанные выше недостатки методики комбинированного стерилизующего воздействия оказалось возможным преодолеть путем использования на первом этапе обработки костного имплантата озono-кислородной смесью при комнатной температуре [5, 6, 33]. В качестве экспериментальных образцов использовали прямоугольные фрагменты костной ткани быка с исходной контаминацией смешанной микрофлорой. На первом этапе костные образцы в течение 15–20 минут выдерживали в атмосфере газообразной озono-кислородной смеси, в проточном режиме с концентрацией 6–8 мг/л. Работы проводили в НИЦ БМТ ФГБНУ ВИЛАР. На втором этапе осуществляли облучение потоком быстрых электронов на ускорителе непрерывного действия УЭЛР-1-25-Т-001 с энергией 1 МэВ на базе НИИЯФ имени М.В. Ломоносова. Последующие микробиологические исследования, проведенные в НИЦ БМТ ФГБНУ ВИЛАР, показали, что такая двухэтапная стерилизация костных образцов оказывается эффективной при поглощенных дозах от 11 кГр. Такие дозы не приводят к изменениям остеоиндуктивных свойств и морфомеханических характеристик костной ткани. Разработанная технология защищена патентом Российской Федерации № 2630464 «Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов» [39].

## Заключение

Представленные данные свидетельствуют о том, что проблема создания эффективных способов стерилизации биоимплантатов еще далека от оптимального решения и остается актуальной. Поиск инновационных подходов к ее решению, как и других актуальных медико-биологических проблем, составляет основу федеральных целевых программ последних десятилетий, в которых значительное внимание уделено здоровьесберегающим технологиям. На успешное решение этой важной задачи направлены в настоящее время усилия специалистов смежных наук, что позволит создать прорывные технологии в области стерилизации и обеспечить оптимизацию данного процесса при достижении его высокой эффективности. ☺

## Дополнительная информация

### Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Участие авторов

Оба автора внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.



## Литература

1. Nemzek JA, Arnoczky SP, Swenson CL. Retroviral transmission in bone allotransplantation. The effects of tissue processing. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;(324):275–82.
2. Marthy S, Richter M. Human immunodeficiency virus activity in rib allografts. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56(4):474–6. doi: 10.1016/s0278-2391(98)90716-9.
3. Martinez OV, Buck BE, Hernandez M, Malinin T. Blood and marrow cultures as indicators of bone contamination in cadaver donors. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;(409):317–24. doi: 10.1097/01.blo.0000053343.97749.21.
4. Singh R, Singh D, Singh A. Radiation sterilization of tissue allografts: A review. *World J Radiol.* 2016;8(4):355–69. doi: 10.4329/wjr.v8.i4.355.
5. Пантелеев ВИ, Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Лекишвили МВ, Сысоев НН, Шутеев СА, Альков СВ, Андреева ТМ. Медицинские озонные технологии. Новые задачи, возможности, оборудование. *Биомедицинская радиоэлектроника.* 2013;(2):3–11.
6. Матвейчук ИВ, Розанов ВВ, Пантелеев ВИ, Агалакова ЛМ, Кирилова ИА. Инновационные подходы к совершенствованию процесса стерилизации для решения задач биоматериологии. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2013;(11):92–8.
7. Алимов АС, Близнюк УА, Борщеговская ПЮ, Варзарь СМ, Еланский СН, Ишханов БС, Литвинов ЮЮ, Матвейчук ИВ, Николаева АА, Розанов ВВ, Студеникин ФР, Черняев АП, Шведун ВИ, Юров ДС. Применение пучков ускоренных электронов для радиационной обработки продуктов питания и биоматериалов. *Известия Российской академии наук. Серия физическая.* 2017;81(6):819–23.
8. Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Лекишвили МВ, Литвинов ЮЮ, Андреева ТМ, Николаева АА. Инновационные подходы к стерилизации костных имплантатов. *Технологии живых систем.* 2015;12(4):74–6.
9. Aho AJ, Hirn M, Aro HT, Heikkilä JT, Meurman O. Bone bank service in Finland. Experience of bacteriologic, serologic and clinical results of the Turku Bone Bank 1972–1995. *Acta Orthop Scand.* 1998;69(6):559–65. doi: 10.3109/17453679808999255.
10. Czapliński J. Sterilisation with ethylene oxide – economics and safety. *Forum Zakażeń.* 2014;5(4):235–7. doi: dx.doi.org/10.15374/FZ2014041.
11. Kearney JN, Bojar R, Holland KT. Ethylene oxide sterilisation of allogenic bone implants. *Clin Mater.* 1993;12(3):129–35. doi: 10.1016/0267-6605(93)90063-d.
12. Kakiuchi M, Ono K. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 2. Clinical evaluation of its efficacy and safety. *Int Orthop.* 1996;20(3):147–52. doi: 10.1007/s002640050052.
13. Kakiuchi M, Ono K, Nishimura A, Shiokawa H. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 1. Experimental evaluation of its efficacy and safety. *Int Orthop.* 1996;20(3):142–6. doi: 10.1007/s002640050051.
14. Arizono T, Iwamoto Y, Okuyama K, Sugioka Y. Ethylene oxide sterilization of bone grafts. Residual gas concentration and fibroblast toxicity. *Acta Orthop Scand.* 1994;65(6):640–2. doi: 10.3109/17453679408994621.
15. Muscarella LF. Use of ethylene-oxide gas sterilisation to terminate multidrug-resistant bacterial outbreaks linked to duodenoscopes. *BMJ Open Gastroenterol.* 2019;6(1):e000282. doi: 10.1136/bmjgast-2019-000282.
16. Tshamala M, Cox E, De Cock H, Goddeeris BM, Mattheeuws D. Antigenicity of cortical bone allografts in dogs and effect of ethylene oxide-sterilization. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999;69(1):47–59. doi: 10.1016/s0165-2427(99)00042-2.
17. Russell JL, Block JE. Clinical utility of demineralized bone matrix for osseous defects, arthrodesis, and reconstruction: impact of processing techniques and study methodology. *Orthopedics.* 1999;22(5):524–31.
18. Dzedzic-Goclawska A. The effect of radiation sterilization on connective tissue allografts. *Proceedings of 2<sup>nd</sup> World Congress on Tissue Banking “Allograft against disability”.* Warsaw; 1999. p. 48.
19. Tallentire A. The spectrum of microbial radiation sensitivity. *Radiation Physics and Chemistry.* 1977;15(1):83–9. doi: 10.1016/0146-5724(80)90101-6.
20. Schmidt T, Hoberg A, Broziat C, Smith MD, Gohs U, Pruss A, Scheffler S. Sterilization with electron beam irradiation influences the biomechanical properties and the early remodeling of tendon allografts for reconstruction of the anterior cruciate ligament (ACL). *Cell Tissue Bank.* 2012;13(3):387–400. doi: 10.1007/s10561-011-9289-6.
21. Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Черняев АП, Николаева НА. Изменения морфомеханических характеристик костных имплантатов при радиационной стерилизации. *Известия Российской академии наук. Серия физическая.* 2019;83(10):1435–40. doi: 10.1134/S0367676519040203.
22. Осипенкова-Вичтомова ТК. Судебно-медицинская экспертиза костей. М.: Бинном; 2017. 272 с.
23. Шангина ОР, Нигматуллин РТ. Влияние радиационной стерилизации на структуру и свойства биоматериалов. *Морфология.* 2006;129(3):44–7.
24. Nguyen H, Cassady AI, Bennett MB, Gineys E, Wu A, Morgan DA, Forwood MR. Reducing the radiation sterilization dose improves mechanical and biological quality while retaining sterility assurance levels of bone allografts. *Bone.* 2013;57(1):194–200. doi: 10.1016/j.bone.2013.07.036.
25. Akkus O, Belaney RM. Sterilization by gamma radiation impairs the tensile fatigue life of cortical bone by two orders of magnitude. *J Orthop Res.* 2005;23(5):1054–8. doi: 10.1016/j.orthres.2005.03.003.
26. Nguyen H, Morgan DA, Forwood MR. Validation of 11 kGy as a radiation sterilization dose for frozen bone allografts. *J Arthroplasty.* 2011;26(2):303–8. doi: 10.1016/j.arth.2010.03.032.
27. Draenert GF, Delius M. The mechanically stable steam sterilization of bone grafts. *Biomaterials.* 2007;28(8):1531–8. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.11.029.
28. Le Huec JC. Experimental study of the thermic effect on bone at 60 degrees C, as applied to bone allograft. *Chirurgie.* 1992;118(6–7):397–404. French.
29. Kühne JH, Refior HJ, Jansson V, DeToma G, Liepold KP, Verpoorten U. Initial clinical results with heat-treated homologous bone transplants. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 1994;132(2):102–11. German. doi: 10.1055/s-2008-1039827.
30. Rauh J, Despang F, Baas J, Liebers C, Pruss A, Gelinsky M, Günther KP, Stiehler M. Comparative biomechanical and microstructural analysis of native versus peracetic acid-ethanol treated cancellous bone graft. *Biomed Res Int.* 2014;2014:784702. doi: 10.1155/2014/784702.
31. Сибельдина ЛА. Стерилизация озонном. *Медицина и здоровье.* 2007;11(19):24–5.
32. Сибельдина ЛА. Дезинфектанты: защита или угроза? *Медицина и здоровье.* 2009;9(41):28–9.
33. Быков ВА, Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Пантелеев ВИ, Шутеев СА, Литвинов ЮЮ, Воронников АИ, авторы; ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии, патентообладатель. Способ изготовления костных имплантов. Пат. 2526429 Рос. Федерация. Оpubл. 20.08.2014.
34. Пантелеев ИВ, Розанов ВВ, Матвейчук ИВ, Бахтин НА, Журнаков ЕА, Сидельников НИ, авторы; ФГБНУ ВИЛАР, патентообладатель. Устранение для стерилизации биоматериалов. Пат. 180532 Рос. Федерация. Оpubл. 15.06.2018.
35. Nather A, Chew JLL, Aziz Z. Types of Terminal Sterilization of Tissue Grafts. In: Nather A, Yusof N, Hilmy N. *Radiation in Tissue Banking.* World Scientific; 2007. p. 3–9. doi: 10.1142/9789812708649\_0001.
36. Dalmaso JP, Mielnik TJ, inventors; Steris Corp, assignee. Method of sterilization of bone tissue. United States patent 5788941A. 1998 Apr 8.
37. Савельев ВИ, Булатов АА, Рыков ЮА, авторы; ФГУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена Росмедтехнологии», патентообладатель. Комбинированный способ стерилизации костных трансплантатов. Пат. 2356224 Рос. Федерация. Оpubл. 27.05.2009.
38. Эйдус ЛХ. Мембранный механизм биологического действия малых доз. М.; 2001.
39. Матвейчук ИВ, Розанов ВВ, Гордонова ИК, Никитина ЗК, Сидельников НИ, Литвинов ЮЮ, Николаева АА, Черняев АП, Пантелеев ИВ, авторы; ФГБНУ ВИЛАР, патентообладатель. Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов. Пат. 2630464 Рос. Федерация. Оpubл. 08.09.2017.



## References

- Nemzek JA, Arnoczky SP, Swenson CL. Retroviral transmission in bone allotransplantation. The effects of tissue processing. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;(324):275–82.
- Marthy S, Richter M. Human immunodeficiency virus activity in rib allografts. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56(4):474–6. doi: 10.1016/s0278-2391(98)90716-9.
- Martinez OV, Buck BE, Hernandez M, Malinin T. Blood and marrow cultures as indicators of bone contamination in cadaver donors. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;(409):317–24. doi: 10.1097/01.blo.0000053343.97749.21.
- Singh R, Singh D, Singh A. Radiation sterilization of tissue allografts: A review. *World J Radiol.* 2016;8(4):355–69. doi: 10.4329/wjr.v8.i4.355.
- Pantelev VI, Rozanov VV, Matveychuk IV, Lekishvili MV, Sysoev NN, Shuteev SA, Al'kov SV, Andreeva TM. Medical ozone technologies: new problems, possibilities, equipment. *Biomedical Radioelectronics.* 2013;(2):3–11. Russian.
- Matveychuk IV, Rozanov VV, Pantelev VI, Agalakova LM, Kirilova IA. Innovative approaches to improvement of process of sterilization for the solution of problems of bioimplantology. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2013;(11):92–8. Russian.
- Alimov AS, Bliznyuk UA, Borchevovskaya PU, Varzar SM, Elansky SN, Ishkhanov BS, Litvinov UU, Matveychuk IV, Nikolaeva AA, Rozanov VV, Studenikin FR, Chernyaev AP, Shvedunov VI, Yurov DS. Using accelerated electron beams for the radiation processing of foodstuffs and biomaterials. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics.* 2017;81(6):743–7.
- Rozanov VV, Matveychuk IV, Lekishvili MV, Litvinov YY, Andreeva TM, Nikolaeva AA. Innovative approaches of implants' sterilization. *Journal Technologies of Living Systems.* 2015;12(4):74–6. Russian.
- Aho AJ, Hirn M, Aro HT, Heikkilä JT, Meurman O. Bone bank service in Finland. Experience of bacteriologic, serologic and clinical results of the Turku Bone Bank 1972–1995. *Acta Orthop Scand.* 1998;69(6):559–65. doi: 10.3109/17453679808999255.
- Czapliński J. Sterilisation with ethylene oxide – economics and safety. *Forum Zakazeń.* 2014;5(4):235–7. doi: dx.doi.org/10.15374/FZ2014041.
- Kearney JN, Bojar R, Holland KT. Ethylene oxide sterilisation of allogenic bone implants. *Clin Mater.* 1993;12(3):129–35. doi: 10.1016/0267-6605(93)90063-d.
- Kakiuchi M, Ono K. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 2. Clinical evaluation of its efficacy and safety. *Int Orthop.* 1996;20(3):147–52. doi: 10.1007/s002640050052.
- Kakiuchi M, Ono K, Nishimura A, Shiokawa H. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 1. Experimental evaluation of its efficacy and safety. *Int Orthop.* 1996;20(3):142–6. doi: 10.1007/s002640050051.
- Arizono T, Iwamoto Y, Okuyama K, Sugioka Y. Ethylene oxide sterilization of bone grafts. Residual gas concentration and fibroblast toxicity. *Acta Orthop Scand.* 1994;65(6):640–2. doi: 10.3109/17453679408994621.
- Muscarella LF. Use of ethylene-oxide gas sterilisation to terminate multidrug-resistant bacterial outbreaks linked to duodenoscopes. *BMJ Open Gastroenterol.* 2019;6(1):e000282. doi: 10.1136/bmjgast-2019-000282.
- Tshamala M, Cox E, De Cock H, Goddeeris BM, Mattheeuws D. Antigenicity of cortical bone allografts in dogs and effect of ethylene oxide-sterilization. *Vet Immunol Immunopathol.* 1999;69(1):47–59. doi: 10.1016/s0165-2427(99)00042-2.
- Russell JL, Block JE. Clinical utility of demineralized bone matrix for osseous defects, arthrodesis, and reconstruction: impact of processing techniques and study methodology. *Orthopedics.* 1999;22(5):524–31.
- Dziedzic-Goclawska A. The effect of radiation sterilization on connective tissue allografts. *Proceedings of 2<sup>nd</sup> World Congress on Tissue Banking "Allograft against disability".* Warsaw; 1999. p. 48.
- Tallentire A. The spectrum of microbial radiation sensitivity. *Radiation Physics and Chemistry.* 1977;15(1):83–9. doi: 10.1016/0146-5724(80)90101-6.
- Schmidt T, Hoburg A, Broziat C, Smith MD, Gohs U, Pruss A, Scheffler S. Sterilization with electron beam irradiation influences the biomechanical properties and the early remodeling of tendon allografts for reconstruction of the anterior cruciate ligament (ACL). *Cell Tissue Bank.* 2012;13(3):387–400. doi: 10.1007/s10561-011-9289-6.
- Rozanov VV, Matveychuk IV, Chernyaev AP, Nikolaeva NA. Changes in the morphological and mechanical characteristics of bone implants upon radiation sterilization. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics.* 2019;83(10):1311–5.
- Osipenkova-Vichtomova TK. Forensic histological expert evaluation of the bone. *Moscow: Binom;* 2017. 272 p. Russian.
- Shangina OR, Nigmatullin RT. Effect of radiation sterilization on biomaterial structure and properties. *Morphology.* 2006;129(3):44–7. Russian.
- Nguyen H, Cassady AI, Bennett MB, Gineyts E, Wu A, Morgan DA, Forwood MR. Reducing the radiation sterilization dose improves mechanical and biological quality while retaining sterility assurance levels of bone allografts. *Bone.* 2013;57(1):194–200. doi: 10.1016/j.bone.2013.07.036.
- Akkus O, Belaney RM. Sterilization by gamma radiation impairs the tensile fatigue life of cortical bone by two orders of magnitude. *J Orthop Res.* 2005;23(5):1054–8. doi: 10.1016/j.orthres.2005.03.003.
- Nguyen H, Morgan DA, Forwood MR. Validation of 11 kGy as a radiation sterilization dose for frozen bone allografts. *J Arthroplasty.* 2011;26(2):303–8. doi: 10.1016/j.arth.2010.03.032.
- Draenert GF, Delius M. The mechanically stable steam sterilization of bone grafts. *Biomaterials.* 2007;28(8):1531–8. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.11.029.
- Le Huec JC. Experimental study of the thermic effect on bone at 60 degrees C, as applied to bone allograft. *Chirurgie.* 1992;118(6–7):397–404. French.
- Kühne JH, Refior HJ, Jansson V, DeToma G, Liepold KP, Verpoorten U. Initial clinical results with heat-treated homologous bone transplants. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 1994;132(2):102–11. German. doi: 10.1055/s-2008-1039827.
- Rauh J, Despang F, Baas J, Liebers C, Pruss A, Gelinsky M, Günther KP, Stiehler M. Comparative biomechanical and microstructural analysis of native versus peracetic acid-ethanol treated cancellous bone graft. *Biomed Res Int.* 2014;2014:784702. doi: 10.1155/2014/784702.
- Sibel'dina LA. Ozone sterilization. *Meditcina i zdorov'e.* 2007;11(19):24–5. Russian.
- Sibel'dina LA. Disinfectants: protection or a threat? 2009;9(41):28–9. Russian.
- Bykov VA, Rozanov VV, Matveychuk IV, Pantelev VI, Shuteev SA, Litvinov YuYu, Vorotnikov AI, authors; GNU VILAR Rossel'khozakademii, assignee. A method to manufacture bone implants. *Russian Federation patent 2526429.* 2014 Aug 20.
- Pantelev IV, Rozanov VV, Matveychuk IV, Bakhtin NA, Zhurnakov EA, Sidel'nikov NI, authors; FGBNU VILAR, assignee. A device for biomaterial sterilization. *Russian Federation patent 180532.* 2018 Jun 15.
- Nather A, Chew JLL, Aziz Z. Types of Terminal Sterilization of Tissue Grafts. In: Nather A, Yusof N, Hilmy N. *Radiation in Tissue Banking.* World Scientific; 2007. p. 3–9. doi: 10.1142/9789812708649\_0001.



36. Dalmasso JP, Mielnik TJ, inventors; Steris Corp, assignee. Method of sterilization of bone tissue. United States patent 5788941A. 1998 Apr 8.
37. Savel'ev VI, Bulatov AA, Rykov YuA, inventors; FGU "RNIITO im. R.R. Vredena Rosmedtekh-nologiy", assignee. Combined method of sterilization of bone transplants. Russian Federation patent 2356224. 2009 May 27.
38. Eydus LKh. Membrane mechanism of biological effects of low dose. Moscow; 2001. Russian.
39. Matveychuk IV, Rozanov VV, Gordonova IK, Nikitina ZK, Sidel'nikov NI, Litvinov YuYu, Nikolaeva AA, Chernyaev AP, Panteleev IV, inventors; FGBNU VILAR, assignee. Combined method of sterilization of bone implants. Russian Federation patent 2630464. 2017 Sep 8.

## The current state and promising innovative directions to development methods for bioimplant sterilization

V.V. Rozanov<sup>1,2</sup> • I.V. Matveychuk<sup>1</sup>

We have analyzed the state-of-the-art methods for sterilization of bone implants. The problem of finding effective bioimplant sterilization methods is still far from its optimal solution and remains as urgent as before. The factors limiting further development of the main biomaterial sterilization methods include limitations related to each existing method and the use of technologies with sterilizing effect. Comparative analysis of the main techniques for bioimplant sterilization that are used in medical and biological areas (treatment with ethylene oxide, radiation, wet warmth, liquid media, and ozone) allows for a conclusion on the advantages of the radiation sterilization. However, the choice is challenged by the dilemma: higher radiation dose would increase the sterilization effect, but at the same time can lead to multiple morphological abnormalities in the tissues, deterioration of their mechanical characteristics, destruction of morphogenetic proteins and consequently to lower efficacy of the reparative bone formation. As a result, the material can become unsuitable for clinical use. One of the real approaches to solve this problem is to use as low absorbed radiation dose as possible during irradiation of biomaterials, at least to 15 kGy. The developments made by the authors within the last years have shown that such a result can be achieved by the use of combines sterilization techniques based on combines effects

of a number of physical and chemical factors on the biomaterial being sterilized. Mutual enhancement of the sterilizing effects of these factors creates prerequisites for their synergy, whereby the intensity of each factor can be reduced. This makes it possible to decrease the degree of harmful adverse events associated with each individual factor with higher total effect. The search for innovative solutions for the urgent problems of the bone bioimplant sterilization, for the development of the state-of-the-art health-sparing technologies can be successful only with unification of the efforts by specialists from related sciences. This would allow for creating of breakthrough technologies for sterilization and for optimization of this procedure with achievement of its high efficacy.

**Key words:** bioimplantology, bone tissue, ozone, sterilization, irradiation

**For citation:** Rozanov VV, Matveychuk IV. The current state and promising innovative directions to development methods for bioimplant sterilization. Almanac of Clinical Medicine. 2019;47(7):634–46. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-063.

Received 8 July 2019; revised 6 November 2019; accepted 7 November 2019; published online 22 November 2019

**Vladimir V. Rozanov** – PhD (in Phys. and Math.), Doctor of Biol. Sci., Associate Professor, Leading Research Fellow of Scientific Centre of Hydro-physics Researches, Professor of the Chair of Accelerators Physics and Radiation Medicine, Faculty of Physics<sup>1</sup>; Head of Laboratory, Scientific and Educational-methodic Centre of Bio-medical Technologies<sup>2</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3243-8782>; ResearcherID: E-5959-2017

✉ 1/2 Leninskie gory, Scientific Centre of Hydro-Physics Researches, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 939 13 44. E-mail: vrozanov@mail.ru

**Igor V. Matveychuk** – Doctor of Biol. Sci., Professor, Head of Scientific and Educational-methodic Centre of Bio-medical Technologies<sup>2</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6220-4429>; ResearcherID: AAE-8495-2019

✉ 2 Krasina ul., Moscow, 123056, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 254 46 49. E-mail: nizbmtvilar@gmail.com

### Conflict of interests

Both authors declare no potential conflict of interests that would necessitate any disclosure in this publication.

### Authors' contributions

Both authors have significantly contributed to the study conduct and paper preparation, have read and approved the final version before publication.

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University; 1/2 Leninskie gory, Moscow, 119991, Russian Federation

<sup>2</sup> All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants; 7 Grina ul., Moscow, 117216, Russian Federation