

Способ снижения дозовой нагрузки в процессе радиационной стерилизации костных имплантатов

В. В. Розанов^{1,2}, А. А. Николаева^{1,3,*}, И. В. Матвейчук², А. В. Белоусов¹, Д. С. Юров¹, А. П. Черняев¹

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
физический факультет, кафедра физики ускорителей и радиационной медицины
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

²Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений
Россия, 117216, Москва, ул. Грина 7, стр. 1

³НМИЦ нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко МЗ РФ
Россия, 125047, Москва, 4-я Тверская-Ямская, д. 16

(Статья поступила 21.03.2019; Подписана в печать 24.03.2019)

Среди всех технологий стерилизации костных имплантатов наиболее широкое применение получил радиационный способ обработки костных фрагментов потоком гамма-квантов или электронов. Определяющим параметром при этом является величина поглощенной дозы. Доза, установленная МАГАТЭ для стерилизации костных имплантатов — 25 кГр. Одной из главных проблем является максимально возможное уменьшение дозы с соблюдением условия высокой стерильности имплантатов. Для решения этой проблемы была предложена технология комбинированной стерилизации с использованием радиационной и озono-воздушной обработки. На первом этапе костные фрагменты обрабатываются озono-воздушной смесью, что уменьшает радиорезистентность и снижает популяцию микроорганизмов перед последующей радиационной обработкой. Микробиологические исследования подтвердили эффективность разработанного метода.

PACS: 87.53.-j

УДК: 57.089:539.1.03

Ключевые слова: радиационная стерилизация, комбинированная стерилизация, костные имплантаты, радиационное воздействие, ускоритель электронов, озonoвая стерилизация.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время радиационные способы воздействия обретают все большую востребованность в различных отраслях — промышленности, медицине, сельском хозяйстве. Одно из важнейших условий развития современных медицинских технологий — тщательная стерилизация помещений, инструментария, шовного и пересадочного материала. Поскольку заболевания и повреждения костно-суставного аппарата вышли уже на четвертое по значимости место среди неинфекционных болезней, необходимость в качественном и стерильном пересадочном материале постоянно растет [1].

Радиационная обработка пучком гамма — квантов или быстрых электронов медицинских инструментов и пересадочного материала позволяет обеспечить необходимый уровень стерильности. Такая обработка позволяет затем использовать их в практической медицине. Радиационная обработка на сегодняшний день является самой распространенной методикой стерилизации костных имплантатов и имеет значительное преимущество перед остальными — высокую эффективность и большую проникающую способность [2,3].

Однако недостаток самостоятельного использования радиационной обработки состоит в необходимости введения высоких доз поглощения, что оказывает пагуб-

ное воздействие на структуру и пластические свойства костных имплантатов. В соответствии с рекомендациями МАГАТЭ в качестве стандартной дозы во многих странах принята величина дозы 25 кГр [4,5]. Однако, такая доза может стать критической с точки зрения сохранения активности морфогенетических белков, а нарушения морфологии образцов могут проявляться уже при величине поглощенной дозы выше 15 кГр [6, 7, 8].

Целью настоящего исследования явилась разработка уникальной эффективной технологии, объединяющей положительные стороны двух различных методик и позволяющей снизить побочные эффекты от каждой из них. В качестве таких методик были выбраны радиационная и озonoвая.

К очевидным преимуществам стерилизации озonoм следует, в первую очередь, отнести низкотемпературный режим обработки, относительно короткую экспозицию, глубокое проникновение в материал, возможность стерилизации неустойчивых к воздействию температуры изделий, возможность работы со стерилизационными камерами большого объема, отсутствие токсичности, а также безопасность для окружающей среды [9].

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

Цикл исследований по комбинированной стерилизации был осуществлен в совместной (МГУ имени М. В. Ломоносова и ВИЛАР) лаборатории биомедицинских технологий. Эксперименты имели своей основной целью разработку подходов к развитию комбинирован-

*E-mail: aa.nikolaeva@physics.msu.ru

ных технологий стерилизации, в основе которых лежит радиационная обработка с меньшими дозами поглощения. В этой связи необходимым являлось максимально точное определение реально поглощаемой дозы.

В качестве экспериментального материала были использованы образцы костной ткани быка. Из нативной компактной костной ткани механическим способом вырезали образцы прямоугольной формы размером $18 \times 8 \times 6$ мм (рис. 1). До стерилизации образцы были контаминированы смешанной микрофлорой. Перед экспериментами образцы выдерживали в лаборатории при комнатной температуре.



Рис. 1: Образцы имплантатов в индивидуальных упаковках перед облучением

Изготовление и озоновая обработка костных образцов, а также микробиологические исследования осуществлялись в НИЦ БМТ ВИЛАР.

Контрольный образец К1 не подвергался никакой обработке и был упакован в нестерилизованную термопленку. Экспериментальный образец Э1 подвергался обработке озono-воздушной смесью с концентрацией (6–8) мг/л в течение (10–20) мин с последующей герметичной упаковкой в стерилизованную той же озono-воздушной смесью термопленку.

Экспериментальные образцы Э2–Э5 не подвергались озоновой обработке. Они были упакованы в нестерилизованную термопленку и после хранения в течение 3 суток в герметичной упаковке подвергались радиационной стерилизации посредством облучения потоком быстрых электронов с дозами облучений 11, 15, 23 и 27 кГр, соответственно.

Экспериментальные образцы Э6–Э7 подвергались обработке озono-воздушной смесью с концентрацией (6–8) мг/л в течение (10–20) минут с последую-

щей герметичной упаковкой в стерилизованную той же озono-воздушной смесью термопленку. После хранения в течение 3 суток в герметичной упаковке образцы подвергались радиационной стерилизации посредством облучения потоком быстрых электронов с дозой облучения 11, 15, 23 и 27 кГр, соответственно.

Для получения озono-воздушной смеси использовался промышленный генератор медицинского озона А-с-ГОКСф-5-02-ОЗОН (производство ОАО «Электромашиностроительный завод «Лепсе» (г. Киров, Россия), а также концентратор кислорода VisionAire (США). Для контроля реального текущего значения концентрации озона в смеси во время обработки костных образцов использовался Измеритель концентрации озона ИКО–50 (производство ОАО «Электромашиностроительный завод «Лепсе», г. Киров, Россия).

Радиационное облучение образцов проводилось на линейном ускорителе электронов непрерывного действия в Научно-исследовательском институте ядерной физики МГУ имени М. В. Ломоносова. Энергия пучка электронов составляла 1 МэВ, мощность пучка до 25 кВт. Дозиметрический контроль поглощенной дозы ионизирующего излучения выполнялся с помощью пленочного детектора–дозиметра СО ПД (Ф)Р-5/50.

Величина поглощаемой дозы в процессе радиационной стерилизации костных имплантатов зависит от многих параметров процесса радиационной обработки вплоть до характеристик и геометрии самих образцов. В связи с этим при выборе и реализации радиационного способа стерилизации очень важно правильно метрологически обеспечить получение облучаемыми образцами необходимой дозы как при промышленной обработке продукции тканевого банка, так и при проведении экспериментальных работ, направленных на развитие методики радиационной стерилизации.

На первом этапе метрологического контроля осуществлялась математическая оценка поглощенной дозы, основанная на расчете накопленного заряда на пластине, на которую помещались образцы. Оценка производится на основании параметров пучка, настраиваемых на ускорителе (ток пучка, время воздействия) и свойствах образца.

Вторым этапом является оценка величины поглощенной дозы во время эксперимента. На верхнюю и нижнюю часть образца приклеивается пленочный детектор-дозиметр, устанавливается ток пучка и проводится облучение в течение времени, необходимого для получения образцом установленной дозы. С помощью оптического спектрофотометра с пленочных детекторов считывается оптическая плотность и рассчитывается измеренная доза. В результате обеспечивается получение полной объективной картины параметров эксперимента.

Третий этап состоит в построении модели эксперимента с помощью программного пакета GEANT4. В данной задаче производится моделирование процесса запуска частиц (электронов) с заданной энергией 1 МэВ в соответствии с геометрией эксперимента. Ча-

Таблица I: Результаты эксперимента по облучению костных образцов пучком быстрых электронов с энергией 1 МэВ

№ образца	Q, мкКл	I, мкА	$\sim t$, с	$D_{\text{экс}}$, кГр
2.01	558	2.4	232	2
2.02	1113	2.7	412	4.57
32, 36	2640	2.6	1015	11
33, 37	3975	2.4	1656	15.2
34	5301	33	160	24.5
35	6625	33	201	27.35

стицы попадают на пластину из материала с составом, соответствующим составу костной ткани и размерами, соответствующими реальным. Детектором в процессе выступает образец костного материала, а также образец дозиметрической пленки, использующейся в эксперименте для контроля дозы. В работе осуществлена задача моделирования по нахождению энергетических потерь электронов, прошедших через материал детектора. Все физические процессы, произошедшие в результате взаимодействия ионизирующего излучения с веществом, учтены в физической модели пакета программ.

После всех этапов обработки осуществлялось микробиологическое исследование стерильности контрольных и экспериментальных образцов в соответствии с ОФС 42-0066-07. Испытуемые образцы в стерильных условиях помещали в пробирки с 6.5 мл культуральных сред. Исследование осуществлялось на наличие на образцах костной ткани аэробных и анаэробных бактерий с использованием тиогликолевой среды и микроскопических грибов с использованием среды Сабуро. Инкубация образцов проводилась в пробирках в течение 14 суток при температуре 26°C на среде Сабуро и 37°C на тиогликолевой среде. Наличие роста микроорганизмов в питательной среде определяли визуально.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во время облучения две упаковки с образцами помещались на пластину размером 5.1×35 см. Предварительно была произведена оценка времени облучения по известному желаемому значению поглощенной дозы. Значения накопленного пластиной заряда и тока при проведении каждого из экспериментов указаны в табл. I.

В проведенном эксперименте было отмечено, что пленки-детекторы, прикрепленные к нижней части образцов, остались светлыми после облучения в зоне, где к ним прилежали костные материалы (рис. 2). Верхние же пленки и та часть нижних, которая не соприкасалась с костными образцами, с каждой более высокой дозой окрашивались в более темный цвет. Также по измеренным значениям оптической плотности видно, что в зоне под костными материалами поглощенная доза,

полученная нижним детектором, значительно меньше, чем верхним. Из чего можно сделать вывод, что практически вся энергия поглощается в образцах.

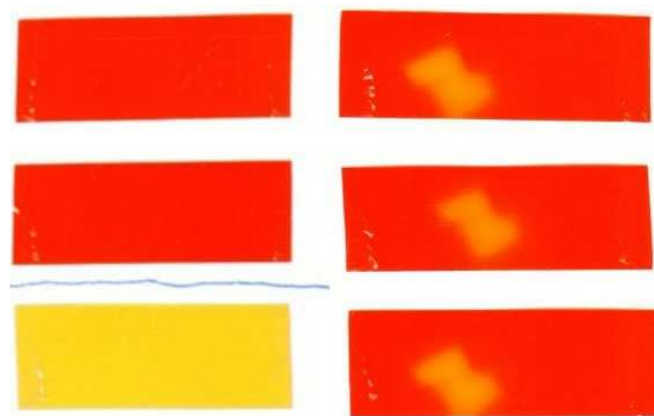


Рис. 2: Пленки, находившиеся сверху на образце (две слева сверху): необлученная пленка (слева, нижняя); пленки, находившиеся снизу под образцом (три справа)

В результате моделирования физического эксперимента в программной среде GEANT4 был получен массив данных, состоящий из значений поглощенной энергии в образце при разных значениях толщины, площади, а также при отклонениях по энергии электронов.

Аппроксимация результатов данных для поглощенной энергии при разных значениях площади и толщины образца произведена полиномом второй степени. Погрешность определения дозы, связанная с погрешностью аппроксимации и определения толщины и площади образца, рассчитана по формуле для погрешностей косвенных измерений. Итоговая относительная погрешность определения поглощенной дозы составила 11%. Необходимо также учитывать погрешность, связанную с принципом работы ускорителя, формирующего сканирующий пучок, которая составляет 5%. Общая погрешность определения дозы получается равной 12%.

В ходе микробиологических исследований было установлено, что контрольные образцы, не прошедшие никакой обработки, а также образцы, подвергавшиеся только обработке озono-кислородной смесью, показали

Таблица II: Результаты микробиологического исследования стерильности контрольного и экспериментальных образцов костной ткани

№№	Стерилизация образца и упаковки	Концентрация озono-воздушной смеси, мг/л	Величина поглощенной дозы при радиационной стерилизации, кГр (с учетом погрешности 12%)				Наличие патогенов по результатам микробиологических исследований		
			11 ±1.32	15.2 ±1.8	24.5 ±2.76	27.35 ±3.24	3 сут-ки	6 сут-ки	14 сут-ки
K1	Без озоновой и радиационной обработки						+	+	+
Э1	Стерилизация только озоном	6					+	+	+
Э2	Только радиационная стерилизация (без озоновой обработки)		v				–	±	±
Э3	Только радиационная стерилизация (без озоновой обработки)			v			–	–	±
Э4	Только радиационная стерилизация (без озоновой обработки)				v		–	+	+
Э5	Только радиационная стерилизация (без озоновой обработки)					v	–	–	±
Э6	Стерилизация озоном + радиационная стерилизация	8	v				–	–	–
Э7	Стерилизация озоном + радиационная стерилизация	6		v			–	–	–

– полное отсутствие патогенов по обеим средам
 ± частичное проявление патогенов по одной из сред
 + проявление патогенов в обеих культуральных средах

наличие обсеменения уже на 3 сутки культивирования на выбранных культуральных средах (табл. II).

Экспериментальные образцы, не подвергавшиеся озоновой обработке, но прошедшие процедуру радиационного облучения, показали наличие обсемененности на 6–14 сутки хотя бы на одной из культуральных сред.

Полную стерильность на обеих культуральных средах через 14 суток эксперимента продемонстрировали только образцы, подвергавшиеся комбинированному воздействию — последовательной обработке озono-воздушной смесью и радиационному облучению с величинами поглощенных доз — 11, 15 и 27 кГр.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный эффективный и инновационный подход к комбинированной стерилизации гарантирует стерильность с одновременным сохранением биопластических свойств материала при длительном хранении. Такой технологический цикл может осуществляться в лаборатории с последующим предоставлением качественного и стерильного материала в тканевые банки или учреждения здравоохранения. Полученные в настоящем исследовании результаты с учетом данных проведенного патентного поиска подтвердили новизну и патентоспособность данной разработки и явились основанием для получения Патента Российской Федерации на «Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов» [10].

- [1] Матвейчук И. В., Розанов В. В., Пантелеев В. И., Агалакова Л. М., Кирилова И. А. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. **11**, № 11. С. 92.
- [2] Dziedzic-Goclawska A. The effect of radiation sterilization on connective tissue allografts. Allograft against disability. / Mat. 2 World Congress on Tissue Banking. Warsaw, 1999. P. 48.
- [3] Singh R., Singh D., Singh A. World J. Radiol. 2016. **8**(4). P. 355.
- [4] Tallentire A. Radiation Phys. Chem. 1980. **15**. P. 83.
- [5] Розанов В. В., Быков В. А., Матвейчук И. В., Лекушвили М. В., Пантелеев В. И., Шутеев С. А. Медицинский альманах. 2013. №3(27). С. 24.
- [6] Шангина О. Р. Влияние радиационной стерилизации на структуру биоматериалов. Аллоплант: Экспериментально-морфологическое исследование. – Дисс. канд. биол. наук.-Уфа, 1999, 130 с.
- [7] Dux S. J., Ramsey D., Chu E. H., Rimnac C. M., Hernandez C. J. Journal of Biomechanics. 2010. **43**. P. 1509.
- [8] Nguyen H., Morgan David A. F., Forwood M. D. The Journal of Arthroplasty. 2011. **26**, N 2. P. 303.
- [9] Сибельдина Л. А. Медицина и здоровье. 2007. № 11(19). С. 24.
- [10] Матвейчук И. В., Розанов В. В., Гордонова И. К., Сидельников Н. И., Литвинов Ю. Ю., Пантелеев И. В., Никитина З. К., Черняев А. П., Николаева А. А. Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов. Патент РФ № 2630464 от 08.09.2017, Бюл. № 25 С. 3.

A method of reducing the dose during the radiation sterilization process of bone grafts

V. V. Rozanov^{1,2}, A. A. Nikolaeva^{1,3,a}, I. V. Matveychuk², A. V. Belousov¹, D. S. Yurov¹, A. P. Chernyaev¹

¹Department of Physics of accelerators and radiation medicine, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University Moscow 119991, Russia

²All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR). Moscow, 117216, Russia

³FSAI «N.N. Burdenko Neurosurgery Institute». Moscow, 125047, Russia

E-mail: ^aaa.nikolaeva@physics.msu.ru

Among all the technologies of bone implant sterilization the most widely used is the radiation sterilization method with gamma rays or electrons. The determining parameter is the value of the absorbed dose. Dose established by the IAEA for sterilization of bone grafts is 25 kGy. One of the largest problems is the dose reduction while preservation of high sterility of the implants. In order to overcome the above drawbacks, an additional sterilizing factor was proposed to use as a sterilization method comprising treating the implant in two steps with an ozone-air mixture, which reduces radioresistance and reduces the population of microorganisms before subsequent radiation processing. Microbiological studies have confirmed the effectiveness of the developed method.

PACS: 87.53.-j

Keywords: radiation sterilization, combined sterilization, bone implants, radiation exposure, electron accelerator, ozone sterilization.

Received 21 March 2019.

Сведения об авторах

1. Розанов Владимир Викторович — канд. физ.-мат. наук, доктор биол. наук, вед. науч. сотрудник, профессор, зав. лабораторией НИЦ БМТ «Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений»; тел: (495) 939-13-44, e-mail: vrozanov@mail.ru.
2. Николаева Анна Александровна — аспирантка, инженер-физик «НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» МЗ РФ; e-mail: aa.nikolaeva@physics.msu.ru.
3. Матвейчук Игорь Васильевич — доктор биол. наук, профессор, руководитель НИЦ БМТ «Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений»; тел: (499) 254-46-49, e-mail: nizbmtvilar@gmail.com.
4. Юров Дмитрий Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник; тел.: (495) 939-56-62, e-mail: d_yurov88@mail.ru.
5. Черняев Александр Петрович — доктор физ.-мат. наук., профессор, зав. кафедрой, зав. лабораторией; тел.: (495) 939-13-44, e-mail: a.p.chernyaev@yandex.ru.
6. Белоусов Александр Витальевич — канд. физ.-мат. наук, доцент, преподаватель; тел. e-mail (495) 939-49-46, e-mail: belousovav@physics.msu.ru.