

DOI: 10.37988/1811-153X\_2024\_3\_6

[В.Н. Царев](#)<sup>1</sup>,

д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, директор НИМСИ

[М.С. Подпорин](#)<sup>1</sup>,

к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярно-биологических исследований

[Т.В. Царева](#)<sup>1</sup>,

к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии

[В.В. Царева](#)<sup>1</sup>,

научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической офтальмологии

[М.Г. Козодаев](#)<sup>2</sup>,

к. ф.-м. н., с.н.с. Центра коллективного пользования уникальным научным оборудованием в области нанотехнологий

[Е.В. Ипполитов](#)<sup>1</sup>,

д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических исследований

<sup>1</sup> Российский университет медицины, 127006, Москва, Россия<sup>2</sup> МФТИ, 141701, Долгопрудный, Россия**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:**

Царев В.Н., Подпорин М.С., Царева Т.В., Царева В.В., Козодаев М.Г., Ипполитов Е.В. Антиадгезивное и антимикробное действие покрытия из оксида титана с кристаллической структурой анатаз в экспериментах *in vitro* для имплантируемых медицинских изделий. — *Клиническая стоматология*. — 2024; 27 (3): 6—13.  
DOI: 10.37988/1811-153X\_2024\_3\_6

## Антиадгезивное и антимикробное действие покрытия из оксида титана с кристаллической структурой анатаз в экспериментах *in vitro* для имплантируемых медицинских изделий

**Аннотация.** Совокупность прочностных характеристик титановых сплавов, в частности Ti6Al4V, и выраженные биоактивные свойства покрытия из оксида титана представляют значительный интерес для их совместного использования в медицинских конструкциях, что обуславливает необходимость изучения их антиадгезивных и антимикробных свойств. Приоритетное значение данная проблема приобретает при протезировании суставов (тазобедренного, коленного), сложном протезировании в челюстно-лицевой области (при огнестрельных и осколочных ранениях), а также при ортопедической коррекции после хирургических операций головы и шеи. **Цель исследования** — определение адгезии микроорганизмов к образцам титанового сплава Ti6Al4V ELI (стандарт ASTM F136) с различной обработкой поверхности, в том числе с покрытием из оксида титана с кристаллической структурой анатаз, полученного методом атомно-слоевого осаждения. **Материалы и методы.** Изучены свойства образцов из титанового сплава Ti6Al4V с различными видами обработки поверхности, включающей нанесение покрытия TiO<sub>2</sub> с кристаллической структурой анатаз (образцы подготовлены ООО «КОНМЕТ», Москва), которые рассматриваются как вероятные кандидаты для проведения сложного ортопедического лечения пациентов различного профиля (в частности с использованием дентальных имплантатов и искусственных суставов). Использованы микробиологические и молекулярно-биологические методы, которые позволяют количественно оценить показатели микробной адгезии *in vitro* к исследуемым образцам. **Результаты.** Впервые получены результаты сравнительной оценки степени адгезии санитарно-значимых микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*) и анаэробных бактерий (*Actinomyces israelii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium necroforum*) к образцам из титанового сплава Ti6Al4V с покрытием из оксида титана с кристаллической структурой анатаз, полученного методом атомно-слоевого осаждения. **Заключение.** Наиболее низкие значения адгезии для большинства тестируемых микроорганизмов, включая пародонтопатогенные виды анаэробных бактерий и дрожжевых грибов рода *Candida*, выявлены при использовании образцов из сплава Ti6Al4V с покрытием TiO<sub>2</sub> с кристаллической структурой анатаз, что можно трактовать как бактерицидные и фунгицидные свойства данного покрытия.

**Ключевые слова:** оксид титана, кристаллическая структура, анатаз, адгезия микробов, ESKAPE-штаммы, анаэробные виды, дрожжевые грибы

[V.N. Tsarev](#)<sup>1</sup>,

Doctor of Science in Medicine, full professor of the Microbiology, virology, immunology department, director of the Medico-dental research Institute

[M.S. Podporin](#)<sup>1</sup>,

PhD in Medical Sciences, researcher at the Molecular biology research Laboratory

[T.V. Tsareva](#)<sup>1</sup>,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Microbiology, virology, immunology Department

[V.V. Tsareva](#)<sup>1</sup>,

researcher at the Laboratory of experimental and clinical ophthalmology

## Antiadhesive and antimicrobial effect of titanium oxide coating with anatase structure in *in vitro* experiments for medical implants

**Annotation.** The combination of strength characteristics of titanium alloys, in particular Ti6Al4V, as well as the pronounced bioactive properties of titanium oxide coatings are of significant interest for their joint use in medical structures, which makes necessary to examine their anti-adhesive and antimicrobial properties. This problem takes priority in prosthetics of joints (hip, knee), complex prosthetics in the maxillofacial region (for gunshot and shrapnel wounds), as well as in orthopedic correction after head and neck surgery. **Purpose of the study** — determination of adhesion of microorganism strains to samples of titanium alloy Ti6Al4V ELI (ASTM F136 standard) with various types of the surface treatment, including titanium oxide coating with an anatase crystalline structure obtained via atomic layer deposition. **Materials and methods.** Properties of titanium

M.G. Kozodaev<sup>2</sup>,

Ph.D in Physical and Mathematical Sciences, senior researcher at the Center of shared facilities in nanotechnology

E.V. Ippolitov<sup>1</sup>,

Doctor of Science in Medicine, professor, leading researcher of the Molecular biology research Laboratory

<sup>1</sup> Russian University of Medicine, 127006, Moscow, Russia

<sup>2</sup> MIPT, 141701, Dolgoprudny, Russia

alloy Ti6Al4V samples with various types of surface treatment, including the growth of a TiO<sub>2</sub> coating with an anatase crystalline structure (samples prepared by CONMET LLC, Moscow), were studied, which are considered as likely candidates for complex orthopedic treatment of patients of various profiles (in particular, using dental implants and artificial joints). Microbiological and molecular biological methods were used, which make it possible to quantify the indicators of microbial adhesion in vitro to the test samples. **Results.** For the first time, the results of a comparative assessment of adhesion degree of sanitary-important microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*) and anaerobic bacteria (*Actinomyces israelii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium necroforum*) to samples made of Ti6Al4V alloy with titanium oxide anatase coating have been obtained. **Conclusion.** The lowest adhesion values for all tested strains of microorganisms, including periodontal pathogenic species of anaerobic bacteria and yeast fungi of the genus *Candida*, were detected when using Ti6Al4V alloy samples covered with a TiO<sub>2</sub> anatase coating, which can be interpreted as the bactericidal and fungicidal properties of this coating.

**Key words:** titanium oxide, crystalline structure, anatase, microbial adhesion, ESKAPE strains, anaerobic species, yeast fungi

**FOR CITATION:**

Tsarev V.N., Podporin M.S., Tsareva T.V., Tsareva V.V., Kozodaev M.G., Ippolitov E.V. Antiadhesive and antimicrobial effect of titanium oxide coating with anatase structure in in vitro experiments for medical implants. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2024; 27 (3): 6—13 (In Russian). DOI: 10.37988/1811-153X\_2024\_3\_6

## ВВЕДЕНИЕ

По данным ВОЗ, в настоящее время проблема устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам (резистентность) приобретает глобальные масштабы, что определяет необходимость ее решения на государственном и международном уровне. Особо важное значение данная проблема приобретает при протезировании суставов (тазобедренного, коленного) [1, 2], сложном протезировании в челюстно-лицевой области (при огнестрельных и осколочных ранениях), а также при ортопедической коррекции после хирургических операций головы и шеи [3–5].

В последние десятилетия в хирургической практике для изготовления имплантируемых медицинских изделий широко используется титан и его различные сплавы, обладающие рядом неоспоримых достоинств: биоинертность по отношению к тканям человека, высокая механическая прочность и коррозионная стойкость. Для достижения наилучшей биосовместимости титановых имплантатов на текущий момент используются различные способы создания определенного микрорельефа поверхности, включающие пескоструйную обработку и кислотное травление [6]. Также имеется ряд работ, в которых показано, что диоксид титана с кристаллической структурой анатаз стимулирует адгезию к нему клеток костной ткани, их пролиферацию и дифференцировку, что способствует ускорению процесса остеоинтеграции.

Несмотря на это проблема отторжений имплантатов все еще имеет достаточно актуальный характер. Так, ретроспективное исследование зарубежных авторов за 5 лет (2015–2019 гг.), в котором было учтено 6113 дентальных имплантатов из титана, показало, что частота отторжений составляет около 1,2%, причем большинство этих случаев были обусловлены

бактериальной инфекцией [7]. Возникновение инфекционных осложнений снижает эффективность послеоперационного лечения, а также ухудшает прогноз для пациентов в целом [5, 8]. Кроме того, известно, что глубокие инфекционные процессы с последующим некрозом и отторжением обычно происходят у 1–2% пациентов с артропластикой тазобедренного сустава [2]. Высокая адгезивная способность ряда микроорганизмов (стафилококк, энтерококк, ацинетобактер, клебсиелла, грибы и анаэробные возбудители) к искусственным ортопедическим конструкциям, в частности к имплантатам, рассматривается как важнейший фактор патогенности этих микробов, так как после прикрепления начинается процесс их быстрого размножения, что ведет к развитию гнойной хирургической инфекции отчасти вследствие высокого распространения антибиотикорезистентности [9–12].

На основании вышесказанного становится очевидно, что задача имплантации является комплексной, т.е. заключается в достижении антибактериального эффекта поверхности имплантата в сочетании с положительной клеточной реакцией и ускоренной остеоинтеграцией. Известно, что биосовместимость образцов сплавов титана повышается путем изменения поверхности материала с помощью различных физических [6, 8] и химических воздействий [13–15]. В стоматологии и челюстно-лицевой хирургии растет интерес к использованию наночастиц металлов и их оксидов для придания новых свойств композитным материалам [16, 17].

Одним из наиболее важных направлений этих исследований является борьба с полирезистентными штаммами бактерий и грибов [18–20]. Считается, что, в отличие от классических антибиотиков, они одновременно воздействуют на широкий спектр микробных мишеней, не позволяя бактериям вырабатывать механизмы резистентности, что приобретает особую значимость

в связи с ростом полирезистентных патогенов группы ESKAPE [21–24].

Согласно имеющимся данным, модифицированные наночастицами титановые сплавы могут существенно ингибировать процессы первичной микробной адгезии, образования и созревания биопленок на медицинских изделиях [24]. Однако влияние состояния поверхности на механизмы адгезии микроорганизмов — потенциальных возбудителей гнойно-воспалительных осложнений и на антимикробную активность остаются малоизученными.

**Цель работы** — восполнение имеющегося пробела в данной области знаний, а именно сравнительное количественное исследование адгезии микроорганизмов к образцам титанового сплава Ti6Al4V ELI (стандарт ASTM F136) с различной обработкой поверхности, в том числе с покрытием из оксида титана с кристаллической структурой анатаз, полученного методом атомно-слоевого осаждения (АСО).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные стерильные образцы материалов из титанового сплава Ti6Al4V ELI использовали в виде дисков диаметром 8 мм и высотой 1,5 мм. Для исследования были выбраны следующие варианты обработки поверхности дисков, отличающиеся по параметрам шероховатости (численной характеристике микроморфологии) поверхности ( $R_a$ ) и ее химическому состоянию (рис. 1):

- I — без обработки ( $R_a$  0,2 мкм), естественная пленка оксида  $TiO_2$  (контрольный образец);
- II — пескоструйная обработка ( $R_a$  1,6 мкм), естественная оксидная пленка  $TiO_2$ ;
- III — без обработки ( $R_a$  0,2 мкм) с покрытием  $TiO_2$  толщиной 10 нм с кристаллической структурой анатаз, полученным методом АСО;
- IV — пескоструйная обработка ( $R_a$  1,6 мкм) с покрытием  $TiO_2$  толщиной 10 нм с кристаллической структурой анатаз, полученным методом АСО.

Вышеперечисленные образцы были изготовлены на технологическом участке ООО «КОНМЕТ».

До постановки эксперимента *in vitro* диски хранили в стерильных чашках Петри.

Выбор штаммов для проведения исследования с целью изучения адгезии *in vitro* обычно проводится в соответствии с современными представлениями о биологической роли отдельных видов в составе микробиоценоза полости рта и их медицинском значении, в частности, с точки зрения возможного участия в патологии челюстно-лицевой области и возможности развития осложнений воспалительного характера после протезирования с заменой суставов конечностей. Все использованные тест-штаммы выделены в бактериологической лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии. Для идентификации выделенных штаммов использовали наборы API 20A (BioMérieux, Франция) и Biochemical Identification Test Kits (Himedia, Индия), а также использовали комплекс анаэробных исследований бактериологической лаборатории и ПЦР-анализ для оценки адгезии бактерий и грибов *Candida*. При проведении экспериментов *in vitro* по сравнительному изучению первичной адгезии микробов образцы материалов погружали во взвесь суточных культур тест-штаммов санитарно-значимых (3 штамма) и анаэробных пародонтопатогенных (3 штамма) микроорганизмов (табл. 1).

При проведении модельных экспериментов готовили взвесь культур с мутностью 0,5 ед. по Макфарланду, что примерно соответствует  $10^8$  КОЕ/мл для бактерий и  $10^6$  КОЕ/мл для грибов *Candida*. Время выдержки — 40 мин в анаэроstate при 37°C (для анаэробных бактерий), а для грибов — в обычных условиях при

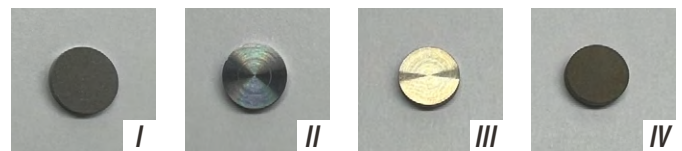


Рис. 1. Фотография используемых образцов: I — без пескоструйной обработки и без покрытия; II — пескоструйная обработка без покрытия; III — без пескоструйной обработки с  $TiO_2$  покрытием анатаз; IV — пескоструйная обработка с  $TiO_2$  покрытием анатаз  
Fig. 1. Photo of samples used: I — no sandblasting and no coating; II — uncoated sandblasting; III —  $TiO_2$  anatase coating without sandblasting with; IV — sandblasting and  $TiO_2$  anatase coating

Таблица 1. Тестовые культуры (штаммы) микроорганизмов

Table 1. Test cultures (strains) of microorganisms

Условная группа/род, вид микроорганизма	Краткая характеристика	Принадлежность
Санитарно-значимые условно-патогенные микроорганизмы		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Грамположительные кокки	Референс-штамм (ATCC 6538)
<i>Escherichia coli</i>	Грамотрицательные палочки	Клинический изолят
<i>Candida albicans</i>	Грамположительные дрожжевые грибы	Референс-штамм (ATCC 10231)
Анаэробные возбудители гнойной инфекции		
<i>Actinomyces israelii</i>	Грамположительные палочки	Клинический изолят
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Грамотрицательные овоиды	Клинический изолят
<i>Fusobacterium necroforum</i>	Грамотрицательные овоиды	Референс-штамм (89-5 ФНЦ ВИЭВ РАН)



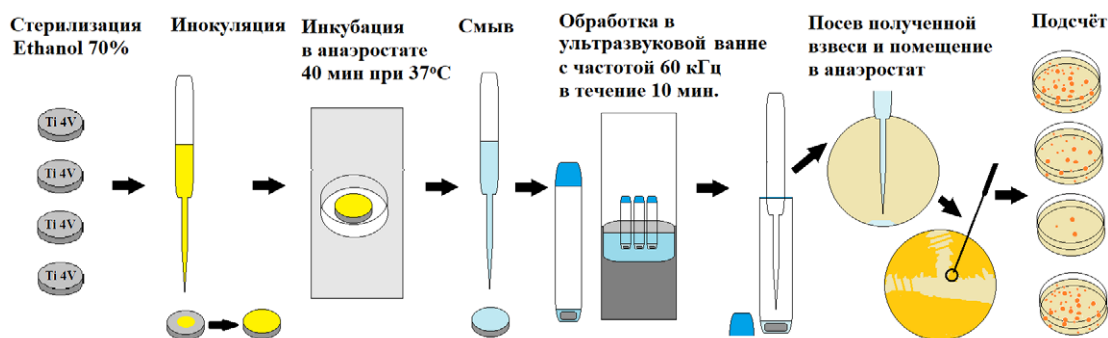


Рис. 2. Принципиальная схема эксперимента по оценке степени адгезии микроорганизмов  
Fig. 2. Schematic diagram of the experiment to assess the degree of adhesion of microorganisms

температуре 22–24°C. Для последующего учета жизнеспособности микроорганизмов выполняли их контрольный высев на соответствующие среды. Далее для удаления микроорганизмов, не вступивших в процесс первичной адгезии с образцами, последние трижды смывали 10 мл стерильного изотонического раствора. Затем каждый образец помещали в специальные емкости, содержащие 5 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия, и подвергали обработке в ультразвуковой ванне в течение 10 мин. Это обеспечивало перевод во взвешенное состояние бактериальных (или дрожжевых) клеток, вступивших в процесс первичной адгезии с поверхностью исследуемого образца.

Из полученной взвеси делали посев на 5%-ный кровяной агар с гемином для выделения гемофильных и анаэробных штаммов, 10%-ный солевой агар для выделения стафилококка, хромогенную среду для выделения дрожжевых грибов (Himedia, Индия) в количестве 100 мкл и распределяли микробные клетки по поверхности питательной среды стерильной платиновой петлей для получения изолированных колоний. Посевы помещали в анаэростат и инкубировали при 37°C в анаэробных условиях (для анаэробных бактерий) или в обычных условиях при температуре 22–24°C — для грибов рода *Candida*. По истечении срока инкубации подсчитывали выросшие изолированные колонии с использованием стереомикроскопа и автоматического счетчика колоний (рис. 2).

Индекс адгезии  $I_a$  высчитывали по формуле:

$$I_a = \frac{\lg A}{\lg N},$$

где  $A$  — число прилипших бактерий по числу выросших колоний;  $N$  — количество бактерий исходной взвеси по контрольному высеву.

В настоящее время на основании изучения адгезии тест-культур к различным материалам принято выделять 5 степеней интенсивности адгезии:

- низкая, 0–0,30, на образце адгезировалось не более 30% микроорганизмов;
- средняя, 0,31–0,50, адгезировалось от 31 до 50% микроорганизмов;
- умеренная, 0,51–0,70, адгезировалось от 51 до 70% бактерий;

- высокая, 0,71–0,90, адгезировалось от 71 до 90% бактерий;
- очень высокая, свыше 0,90, при адгезии к образцу более 91% клеток.

Для статистической обработки данных применяли методы вариационной параметрической и непараметрической статистики для малой выборки. С учетом количества выборки определяли вероятность различий  $p$ . Для малой выборки использовали критерий Манна–Уитни, статистически значимыми считали значения при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Индекс адгезии *S. aureus* к образцу в I группе (контрольной) был максимально высоким и составил 0,75, т.е. около 75% нанесенных микробных клеток вступило в процесс первичной адгезии и сохранило жизнеспособность при последующем высеве на питательную среду. Образцы II–IV группы показали средний уровень адгезии от 0,54 до 0,58, причем минимальное значение отмечено для IV группы (пескоструйная обработка и покрытие анатаз; рис. 3). Полученные результаты были статистически достоверно ниже контрольного образца ( $p < 0,05$ ), но достоверно не различались между собой (табл. 2).

С *E. coli* были получены схожие результаты, причем основные тенденции были аналогичны варианту со штаммом стафилококка. Индекс адгезии в I группе был высоким и составил 0,74, т.е. около 74% нанесенных микробных клеток вступило в процесс первичной

Табл. 2. Индексы первичной адгезии исследуемых микроорганизмов  
Table 2. Primary adhesion indices of the tested microorganisms

Микроорганизм	I группа	II группа	III группа	IV группа
<i>S. aureus</i>	0,75±0,05	0,58±0,03*	0,58±0,03*	0,54±0,03*
<i>E. coli</i>	0,74±0,04	0,57±0,04*	0,54±0,04*	0,55±0,04*
<i>A. israeli</i>	0,42±0,03#	0,45±0,03#	0	0,42±0,03#
<i>P. gingivalis</i>	0,38±0,02#	0	0	0
<i>F. necroforum</i>	0,38±0,04	0,68±0,04*	0	0
<i>C. albicans</i>	0,41±0,04#	0,56±0,04*	0,44±0,04#	0,47±0,04#

Примечание. Статистически достоверное отличие ( $p < 0,05$ ): \* — от I группы; # — между видами по сравнению с максимумом.

адгезии и сохранило жизнеспособность при последующем высеве на питательную среду. Образцы II–IV группы показали средний уровень адгезии в пределах 0,54–0,57, который также был статистически ниже, чем в I группе ( $p < 0,05$ ), но не различался между отдельными вариантами обработки (рис. 4).

Со штаммом *A. israeli* получены результаты, которые отражают тенденции, характерные для анаэробной группы микробов, как более чувствительных к условиям эксперимента. Индекс адгезии в контрольной I группе был умеренным — 0,42. Вариант с покрытием анатаз (III группа) показал отсутствие адгезии тест-штамма, в то время как два других образца данной серии (с пескоструйной обработкой и комбинацией двух методов) показали результаты, которые достоверно не отличались от контрольного образца.

Достаточно обнадеживающие результаты были получены с агрессивными видами грамотрицательных анаэробных бактерий, играющих существенную роль в развитии патологии пародонта, распространенной одонтогенной и системной анаэробной инфекции. Так,

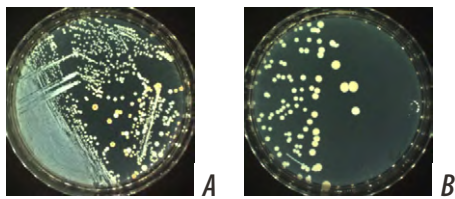


Рис. 3. Результаты исследования первичной адгезии тест-штамма *S. aureus* с использованием программного комплекса Scan 500: А — до обработки ( $1 \cdot 10^6$  КОЕ/мл); В — после пескоструйной обработки ( $5 \cdot 10^4$  КОЕ/мл)

Fig. 3. Results of primary adhesion study of *S. aureus* test strain using Scan 500 software: А — before treatment ( $1 \cdot 10^6$  CFU/mL); В — after sandblasting ( $5 \cdot 10^4$  CFU/mL)

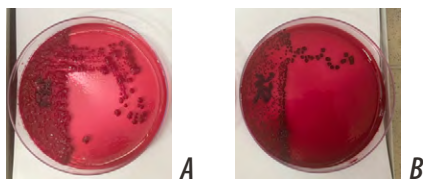


Рис. 4. Результаты исследования первичной адгезии тест-штамма *E. coli*: А — до обработки ( $1 \cdot 10^6$  КОЕ/мл); В — после пескоструйной обработки ( $1 \cdot 10^4$  КОЕ/мл)

Fig. 4. Primary adhesion results of *E. coli* test strain: А — before treatment ( $1 \cdot 10^6$  CFU/mL); В — after sandblasting ( $1 \cdot 10^4$  CFU/mL)

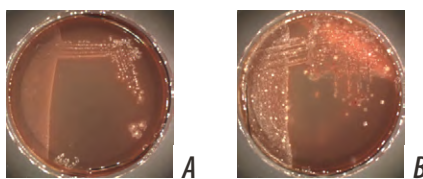


Рис. 5. Результаты исследования первичной адгезии тест-штамма *F. necroforum*: А — до обработки ( $3 \cdot 10^5$  КОЕ/мл); В — после пескоструйной обработки ( $7 \cdot 10^6$  КОЕ/мл)

Fig. 5. Results of the primary adhesion study of the test strain *F. necroforum*: А — before treatment ( $3 \cdot 10^5$  CFU/mL); В — after sandblasting ( $7 \cdot 10^6$  CFU/mL)

для *P. gingivalis* индекс адгезии в I группе составил 0,38, т.е. соответствовал довольно низкому уровню. Во II–IV группе индекс адгезии оказался ниже предела определения, что отчасти может свидетельствовать о бактерицидной активности  $TiO_2$  покрытия анатаз. Эксперимент с *F. necroforum* показал достоверное повышение индекса адгезии до 0,68 во II группе и аналогичное его снижению до нуля в III и IV группах (рис. 5). Следовательно, с данным штаммом подтверждена высокая биоцидная активность диоксида титана в отношении анаэробных возбудителей.

Наконец со штаммом дрожжевых грибов *C. albicans* результаты существенно различались между данными, полученными в контроле и после обработки. Так, в контрольной I группе они были существенно ниже по сравнению с аэробными бактериальными штаммами, но соответствовали уровню, полученному с анаэробными. Индекс адгезии в I группе составил 0,41, т.е. был достоверно ниже, чем индекс адгезии стафилококка и кишечной палочки. Во всех вариантах обработки во II–IV группе индексы адгезии статистически достоверно не отличались от контроля и между собой (в пределах 0,44–0,47), за исключением II группы, где индекс адгезии повысился до 0,56.

Сравнение индексов адгезии различных видов микробов к образцам I–IV группы показано на рис. 6.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что ионы или наночастицы некоторых металлов проявляют антиадгезивную, противокolonизационную и биоцидную активность по отношению к микробиоте, заселяющей абиотические и биотические поверхности в организме [18, 25, 26]. Вероятно, в отличие от классических антибиотиков, они потенциально способны одновременно воздействовать на широкий спектр микробных мишеней, не позволяя бактериям вырабатывать

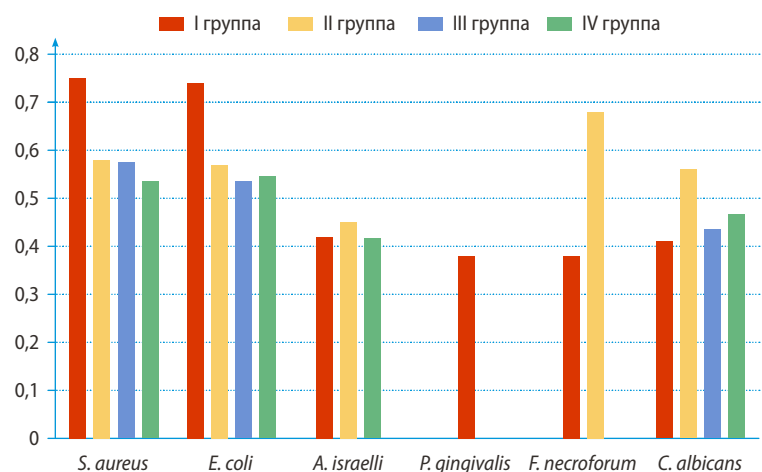


Рис. 6. Сравнительные результаты адгезивной активности аэробных и анаэробных микроорганизмов к исследуемым образцам  
Fig. 6. Comparative results of adhesion activity of aerobic and anaerobic microbes to test samples

механизмы резистентности, однако определяющей структурой в данном случае является клеточная стенка, которая принципиально различается у грамположительных и грамотрицательных микробов, включая образование биопленки [20]. Кроме того, при взаимодействии ионов металла с тканевыми белками они способны вызывать структурные изменения в клеточной мембране, приводя к осмотическому лизису, нарушению функции ферментов и гибели бактерий, что дополнительно может иметь перспективу при борьбе с полирезистентными штаммами бактерий и грибов [26–28].

Тем не менее конкретные механизмы действия ионов металлов или наночастиц, равно как и влияние микроморфологии поверхности на адгезию микроорганизмов остаются малоизученными. Как следствие, в проведенном исследовании микробной адгезии представителей 6 различных групп грамположительных и грамотрицательных, аэробных и анаэробных бактерий, а также грибов не всегда были получены однозначные результаты.

Известно, что для большинства грамположительных условно-патогенных возбудителей (стафилококки, актиномицеты) характерна более высокая устойчивость к биоцидным воздействиям, что, по-видимому, определяет более высокие показатели сохранения жизнеспособных клеток и, соответственно, более высокие индексы адгезии при использовании данной методики. Представители грамотрицательной микробиоты (кишечная палочка и, особенно, анаэробные виды), имеющие тонкую клеточную стенку с низким содержанием пептидогликана, более подвержены биоцидным воздействиям. Тем не менее, как свидетельствует проведенный эксперимент, в большинстве случаев отчетливую тенденцию к снижению индекса микробной адгезии продемонстрировали образцы с покрытием оксида титана с кристаллической структурой анатаз. В частности, это было подтверждено при использовании *S. aureus* и *E. coli*. Существенная разница была заметна при использовании анаэробных возбудителей, когда индексы адгезии нанесенных культур были существенно ниже, а в значительном числе случаев вообще отсутствовал рост микроорганизмов.

Последнее может быть связано не только с антиадгезивной активностью поверхности, но и с кислород-зависимым биоцидным механизмом, реализуемым при поверхностном окислении поверхности. В этом плане более толерантными к воздействию анаэробной микробиоты оказываются актиномицеты, имеющие некоторые ферментные механизмы защиты (каталаза-пероксидаза) [21, 22]. В то же время применение пескоструйной обработки перед нанесением покрытия из диоксида титана в большинстве случаев не оказало существенного влияния на процессы адгезии бактерий. Тем не менее для *C. albicans* пескоструйная обработка поверхности во всех случаях привела к увеличению индекса адгезии, что можно объяснить особенностями их прилипания к подложке за счет клейких гликополисахаридов.

Как следует из результатов исследования, выраженная антибактериальная активность диоксида титана

с кристаллической структурой анатаз снижает риски инфицирования, возникновения и распространения антибиотикорезистентности, что в конечном счете позволяет снизить затраты на лечение для пациентов и финансовую нагрузку на систему здравоохранения в целом.

## ВЫВОДЫ

- 1) Впервые получены сравнительные данные по адгезии санитарно-значимых микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*), анаэробных возбудителей (*Actinomyces israelii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium necroforum*) и дрожжевых грибов *Candida albicans* к образцам титанового сплава Ti6Al4V ELI с различной обработкой поверхности, включающей пескоструйную обработку и нанесение покрытия из оксида титана в форме анатаз, подтвержденные оригинальной методикой оценки микробной адгезии и биоцидных свойств образцов на основе регистрации числа жизнеспособных клеток бактерий или дрожжевых грибов.
- 2) Для большинства микроорганизмов использование покрытия из диоксида титана в модификации анатаз приводило к снижению индексов микробной адгезии. В отдельных случаях, а именно при использовании анаэробных возбудителей, вообще отсутствовал рост микроорганизмов, что подтверждает наличие антимикробной (биоцидной) активности у данного покрытия.
- 3) Пескоструйная обработка поверхности, как правило, не оказывала существенного влияния на индексы адгезии санитарно-значимых бактерий и анаэробных бактерий. Напротив, в результате этой процедуры наблюдалось достоверное увеличение адгезии дрожжевых грибов *Candida*, что, по-видимому, связано с особенностями их прилипания к подложке.
- 4) Установлены существенные различия в проявлении адгезивной активности бактерий санитарно-значимых условно-патогенных видов, дрожжевых грибов рода *Candida* и анаэробных бактерий — у последних адгезивная активность в целом оказалась ниже, а чувствительность к биоцидной структуре покрытия — выше.
- 5) Результаты, полученные в данной работе, представляют несомненный интерес и определяют перспективу в отношении проведения дальнейших исследований по влиянию покрытия TiO<sub>2</sub> с кристаллической структурой анатаз на адгезию микроорганизмов в случае использования образцов из иных титановых сплавов.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 12.07.2024      **Принята в печать:** 20.08.2024

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.  
**Received:** 12.07.2024      **Accepted:** 20.08.2024



## Л И Т Е Р А Т У Р А :

1. Мясоедов А.А., Торопов С.С., Березин Г.В., Карелкин В.В., Тотоев З.А., Шубняков И.И., Тихилов Р.М. Факторы риска развития перипротезной инфекции после первичного эндопротезирования тазобедренного сустава. — *Травматология и ортопедия России*. — 2020; 1: 40—47. [eLibrary ID: 42640040](#)
2. Шильников В.А., Синеокий А.Д., Кочиш А.А., Денисов А.О. Возможные пути инфицирования при эндопротезировании тазобедренного сустава. — *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. — 2023; 4: 25—32. [eLibrary ID: 50783185](#)
3. Янушевич О.О., Ахмедов Г.Д., Панин А.М., Арутюнов С.Д., Царев В.Н. Микроэкология полости рта и инфекционно-воспалительные осложнения в хирургической стоматологии. — М.: Практическая медицина, 2019. — 192 с.
4. Иванов С.Ю., Царев В.Н., Ивашкевич С.Г., Чувилкин В.И., Алешин Н.А. Оценка степени адгезии бактерий полости рта к электретной поверхности дентальных имплантатов. — *Институт стоматологии*. — 2006; 2 (31): 40—41. [eLibrary ID: 14343848](#)
5. Li C., Renz N., Trampuz A. Management of periprosthetic joint infection. — *Hip Pelvis*. — 2018; 30 (3): 138—146. [PMID: 30202747](#)
6. Grigal I.P., Markeev A.M., Gudkova S.A., Chernikova A.G., Mityaev A.S., Alekhin A.P. Correlation between bioactivity and structural properties of titanium dioxide coatings grown by atomic layer deposition. — *Applied Surface Science*. — 2012; 258: 3415—3419. [DOI: 10.1016/j.apsusc.2011.11.082](#)
7. Wu X., Chen S., Ji W., Shi B. The risk factors of early implant failure: A retrospective study of 6113 implants. — *Clin Implant Dent Relat Res*. — 2021; 23 (3): 280—288. [PMID: 33724690](#)
8. Stewart C., Akhavan B., Wise S.G., Bilek M.M.M. A review of biomimetic surface functionalization for boneintegrating orthopedic implants: Mechanisms, current approaches, and future directions. — *Progress in Materials Science*. — 2019; 106: 100588. [DOI: 10.1016/j.pmatsci.2019.100588](#)
9. Арутюнян А.А., Царева Т.В., Ипполитов Е.В., Саркисян М.А., Пономарева А.Г. Распространенность устойчивости к антибиотикам среди штаммов бактерий, выделенных при хроническом пародонтите и у здоровых людей. — *Российская стоматология*. — 2023; 1: 19—23. [eLibrary ID: 50417695](#)
10. Makeeva I.M., Daurova F.Yu., Byakova S.F., Ippolitov E.V., Gostev M.S., Polikushina A.O., Shubin E.A. Чувствительность микробных ассоциаций экссудата пародонтального кармана и одонтогенного очага к антибактериальным препаратам. — *Стоматология*. — 2016; 3: 26—30. [eLibrary ID: 26450092](#)
11. Чаплин А.В., Коржанова М., Коростин Д.О. Выявление генов антибиотикорезистентности бактерий в данных полногеномного секвенирования (обзор литературы). — *Клиническая лабораторная диагностика*. — 2021; 11: 684—688. [eLibrary ID: 47212657](#)
12. Ушаков Р.В., Царев В.Н., Робустова Т.Г., Ипполитов Е.В., Лабазанов А.А. Обоснование алгоритмов антимикробной химиотерапии в комплексном лечении флегмон головы и шеи. — *Клиническая стоматология*. — 2021; 3: 69—76. [eLibrary ID: 46657558](#)
13. Иванов С.Ю., Карасенков Я.Н., Латута Н.В., Джатдаев В.В., Егоров Е.А., Тарасова Е.К., Козлова Э.В., Козлов П.А. Применение наночастиц металлов и их оксидов в стоматологических композитных материалах и конструкциях. Обзор (часть 1). — *Клиническая стоматология*. — 2022; 4: 159—165. [eLibrary ID: 49940631](#)

## R E F E R E N C E S :

1. Myasoedov A.A., Toropov S.S., Berezin G.V., Karelkin V.V., Totoev Z.A., Shubnyakov I.I., Tikhilov R.M. Risk factors for prosthetic joint infection after primary hip arthroplasty. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2020; 1: 40—47 (In Russian). [eLibrary ID: 42640040](#)
2. Shilnikov V.A., Sineoky A.D., Kochish A.A., Denisov A.O. Possible routes of infection in hip replacement. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2023; 4: 25—32 (In Russian). [eLibrary ID: 50783185](#)
3. Yanushevich O.O., Akhmedov G.D., Panin A.M., Arutyunov S.D., Tsarev V.N. Microecology of the oral cavity and infectious and inflammatory complications in surgical dentistry (monography). Moscow: Practical Medicine, 2019. 192 p. (In Russian).
4. Ivanov S.Yu., Tsarev V.N., Ivashkevich S.G., Chuvilkin V.I., Alyoshin N.A. Evaluation of the degree of adhesion of oral bacteria to the electret surface of dental implants. *The Dental Institute*. 2006; 2 (31): 40—41 (In Russian). [eLibrary ID: 14343848](#)
5. Li C., Renz N., Trampuz A. Management of periprosthetic joint infection. *Hip Pelvis*. 2018; 30 (3): 138—146. [PMID: 30202747](#)
6. Grigal I.P., Markeev A.M., Gudkova S.A., Chernikova A.G., Mityaev A.S., Alekhin A.P. Correlation between bioactivity and structural properties of titanium dioxide coatings grown by atomic layer deposition. *Applied Surface Science*. 2012; 258: 3415—3419. [DOI: 10.1016/j.apsusc.2011.11.082](#)
7. Wu X., Chen S., Ji W., Shi B. The risk factors of early implant failure: A retrospective study of 6113 implants. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2021; 23 (3): 280—288. [PMID: 33724690](#)
8. Stewart C., Akhavan B., Wise S.G., Bilek M.M.M. A review of biomimetic surface functionalization for boneintegrating orthopedic implants: Mechanisms, current approaches, and future directions. *Progress in Materials Science*. 2019; 106: 100588. [DOI: 10.1016/j.pmatsci.2019.100588](#)
9. Arutyunyan A.A., Tsareva T.V., Ippolitov E.V., Sarkisyan M.A., Ponomareva A.G. Prevalence of antibiotic resistance among bacterial strains isolated in chronic periodontitis and in healthy people. *Russian Stomatology*. 2023; 1: 19—23 (In Russian). [eLibrary ID: 50417695](#)
10. Makeeva I.M., Daurova F.Y., Byakova S.F., Ippolitov E.V., Gostev M.S., Polikushina A.O., Shubin E.V. Sensitivity of microbial associations of periodontal lesions to antibacterial agents. *Stomatology*. 2016; 3: 26—30 (In Russian). [eLibrary ID: 26450092](#)
11. Chaplin A.V., Korzhanova M., Korostin D.O. Identification of bacterial antibiotic resistance genes in next-generation sequencing data (review of literature). *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021; 11: 684—688 (In Russian). [eLibrary ID: 47212657](#)
12. Ushakov R.V., Tsarev V.N., Robustova T.G., Ippolytov E.V., Labazanov A.A. Justification of algorithms of antimicrobial chemotherapy in the complex treatment of phlegmon head and neck. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2021; 3: 69—76 (In Russian). [eLibrary ID: 46657558](#)
13. Ivanov S.Yu., Karasenkov Ya.N., Latuta N.V., Dzhhatdaev V.V., Egorov E.A., Tarasova E.K., Kozlova E.V., Kozlov P.A. Application of metal nanoparticles and their oxides in dental composite materials and structures: A review (part I). *Clinical Dentistry (Russia)*. 2022; 4: 159—165 (In Russian). [eLibrary ID: 49940631](#)

14. Удегова Е.С., Гильдеева К.А., Рукосуева Т.В., Сьед Б. Антибактериальный эффект наночастиц металлов на антибиотикорезистентные штаммы бактерий. — *Инфекция и иммунитет*. — 2021; 4: 771—776. [eLibrary ID: 46566978](#)
15. Pavlova E.L., Toshkovska R.D., Doncheva T.E., Ivanova I.A. Prooxidant and antimicrobial effects of iron and titanium oxide nanoparticles and thallicarpine. — *Arch Microbiol*. — 2020; 202 (7): 1873—1880. [PMID: 32448965](#)
16. Zafar N., et al. Pharmaceutical and biomedical applications of green synthesized metal and metal oxide nanoparticles. — *Curr Pharm Des*. — 2020; 26 (45): 5844—5865. [PMID: 33243108](#)
17. Parameswaran R., Tian B. Rational design of semiconductor nanostructures for functional subcellular interfaces. — *Acc Chem Res*. — 2018; 51 (5): 1014—1022. [PMID: 29668260](#)
18. Nazarov D., Kozlova L., Rudakova A., Zemtsova E., Yudincheva N., Ovcharenko E., Koroleva A., Kasatkin I., Rogacheva E., Kraeva L., Maximov M. Atomic layer deposition of chlorine containing titanium—zinc oxide nanofilms using the supercycle approach. — *Coatings*. — 2023; 13 (5): 960. [DOI: 10.3390/coatings13050960](#)
19. Sterzenbach T., Helbig R., Hannig C., Hannig M. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. — *Clin Oral Investig*. — 2020; 24 (12): 4237—4260. [PMID: 33111157](#)
20. Pompilio A., et al. Gram-negative bacteria holding together in a biofilm: The *Acinetobacter baumannii* way. — *Microorganisms*. — 2021; 9 (7): 1353. [PMID: 34206680](#)
21. Царев В.Н., Степанов А.Г., Ипполитов Е.В., Подпорин М.С., Царева Т.В. Контроль первичной адгезии микроорганизмов и формирования биопленок на стоматологических материалах, используемых для трансдентальной имплантации при зубосохраняющих операциях. — *Клиническая лабораторная диагностика*. — 2018; 9: 568—573. [eLibrary ID: 36510269](#)
22. Рогачева Е.В. Антибактериальные свойства новых химических соединений природного и синтетического происхождения в отношении бактерий группы ESKAPE: автореф. дис. ... к.м.н. — М.: РУДН, 2024. — 23 с.
23. Ржеусский С.Э. Наночастицы серебра в медицине. — *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. — 2022; 2: 15—24. [eLibrary ID: 48468519](#)
24. Dizaj S.M., et al. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. — *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. — 2014; 44: 278—84. [PMID: 25280707](#)
25. Azharuddin M., Zhu G.H., Das D., Ozgur E., Uzun L., Turner A.P.F., Patra H.K. A repertoire of biomedical applications of noble metal nanoparticles. — *Chem Commun (Camb)*. — 2019; 55 (49): 6964—6996. [PMID: 31140997](#)
26. Shetnev A., Tarasenko M., Kotlyarova V., Baykov S., Geyl K., Kasatkina S., Sibinčić N., Sharoyko V., Rogacheva E.V., Kraeva L.A. External oxidant-free and transition metal-free synthesis of 5-amino-1,2,4-thiadiazoles as promising antibacterials against ESKAPE pathogen strains. — *Mol Divers*. — 2023; 27 (2): 651—666. [PMID: 35639224](#)
27. Arutyunov S., Kirakosyan L., Dubova L., Kharakh Y., Malginov N., Akhmedov G., Tsarev V. Microbial adhesion to dental polymers for conventional, computer-aided subtractive and additive manufacturing: A comparative in vitro study. — *J Funct Biomater*. — 2022; 13 (2): 42. [PMID: 35466224](#)
28. Yin I.X., et al. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. — *Int J Nanomedicine*. — 2020; 15: 2555—2562. [PMID: 32368040](#)
14. Udegova E.S., Gildeeva K.A., Rukosueva T.V., Baker S. Metal nanoparticle antibacterial effect on antibiotic-resistant strains of bacteria. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 4: 771—776 (In Russian). [eLibrary ID: 46566978](#)
15. Pavlova E.L., Toshkovska R.D., Doncheva T.E., Ivanova I.A. Prooxidant and antimicrobial effects of iron and titanium oxide nanoparticles and thallicarpine. *Arch Microbiol*. 2020; 202 (7): 1873—1880. [PMID: 32448965](#)
16. Zafar N., et al. Pharmaceutical and biomedical applications of green synthesized metal and metal oxide nanoparticles. *Curr Pharm Des*. 2020; 26 (45): 5844—5865. [PMID: 33243108](#)
17. Parameswaran R., Tian B. Rational design of semiconductor nanostructures for functional subcellular interfaces. *Acc Chem Res*. 2018; 51 (5): 1014—1022. [PMID: 29668260](#)
18. Nazarov D., Kozlova L., Rudakova A., Zemtsova E., Yudincheva N., Ovcharenko E., Koroleva A., Kasatkin I., Rogacheva E., Kraeva L., Maximov M. Atomic layer deposition of chlorine containing titanium—zinc oxide nanofilms using the supercycle approach. *Coatings*. 2023; 13 (5): 960. [DOI: 10.3390/coatings13050960](#)
19. Sterzenbach T., Helbig R., Hannig C., Hannig M. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. *Clin Oral Investig*. 2020; 24 (12): 4237—4260. [PMID: 33111157](#)
20. Pompilio A., et al. Gram-negative bacteria holding together in a biofilm: The *Acinetobacter baumannii* way. *Microorganisms*. 2021; 9 (7): 1353. [PMID: 34206680](#)
21. Tsarev V.N., Stepanov A.G., Ippolitov E.V., Podporin M.S., Tsareva T.V. Control of primary adhesion of microorganisms and formation of biofilms on stomatological materials used for transdental implantation in dental stabilizing operations. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2018; 9: 568—573 (In Russian). [eLibrary ID: 36510269](#)
22. Rogacheva E.V. Antibacterial properties of new chemical compounds of natural and synthetic origin in relation to ESKAPE group bacteria: dissertation abstract. Moscow: RUDN University, 2024. 23 p. (In Russian).
23. Rzhеussky S.E. Silver nanoparticles in medicine. *Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2022; 2: 15—24 (In Russian). [eLibrary ID: 48468519](#)
24. Dizaj S.M., et al. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014; 44: 278—84. [PMID: 25280707](#)
25. Azharuddin M., Zhu G.H., Das D., Ozgur E., Uzun L., Turner A.P.F., Patra H.K. A repertoire of biomedical applications of noble metal nanoparticles. *Chem Commun (Camb)*. 2019; 55 (49): 6964—6996. [PMID: 31140997](#)
26. Shetnev A., Tarasenko M., Kotlyarova V., Baykov S., Geyl K., Kasatkina S., Sibinčić N., Sharoyko V., Rogacheva E.V., Kraeva L.A. External oxidant-free and transition metal-free synthesis of 5-amino-1,2,4-thiadiazoles as promising antibacterials against ESKAPE pathogen strains. *Mol Divers*. 2023; 27 (2): 651—666. [PMID: 35639224](#)
27. Arutyunov S., Kirakosyan L., Dubova L., Kharakh Y., Malginov N., Akhmedov G., Tsarev V. Microbial adhesion to dental polymers for conventional, computer-aided subtractive and additive manufacturing: A comparative in vitro study. *J Funct Biomater*. 2022; 13 (2): 42. [PMID: 35466224](#)
28. Yin I.X., Zhang J., Zhao I.S., Mei M.L., Li Q., Chu C.H. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *Int J Nanomedicine*. 2020; 15: 2555—2562. [PMID: 32368040](#)