
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Чекнёв С.Б., Вострова Е.И., Сарычева М.А., Востров А.В.

ПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ КАТИОНОВ ЦИНКА В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИЙ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ АНТИБИОТИКОВ

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия

Цель работы – оценка чувствительности бактерий *Staphylococcus aureus* к стандартному набору антибиотиков при нанесении на диск с антибиотиком катионов цинка или в условиях предобработки катионами цинка газона бактерий.

Материалы и методы. Суспензию бактерий *S. aureus*, содержащую 10^8 КОЕ/мл, засеивали газоном на чашки Петри с питательным агаром. Спустя 30 мин на поверхность газона по стандартному шаблону помещали диски с антибиотиками. Катионы цинка применяли в виде водного сульфата $ZnSO_4 \times 7H_2O$ в 0,15 М растворе NaCl. Раствор в объёме 5 мкл наносили на диски с антибиотиками непосредственно после их размещения на поверхности газона или предварительно на поверхность газона с 10-минутной экспозицией на местах последующей установки дисков с антибиотиками. Затем чашки с культурой бактерий инкубировали в течение суток при 37 °С, после чего определяли диаметр зоны задержки роста бактерий.

Результаты и обсуждение. В присутствии на диске с антибиотиком 1,0 мкг/мл катионов цинка снижение чувствительности *S. aureus* к действию антибиотиков отмечено в 2,9% наблюдений. В присутствии одного, четырёх или восьми катионов цинка на молекулу антибиотика на диске протекция бактерий зарегистрирована в 1,4–5,7% случаев. После предобработки газона катионами цинка защита бактерий от последующего воздействия антибиотиков определена в 27,3–45,5% наблюдений.

Заключение. В условиях предобработки газона катионы цинка оказывают выраженное протективное действие на бактерии *S. aureus*, подвергающиеся последующему воздействию антибиотиков.

Ключевые слова: *S. aureus*; антибиотики; протекция; катионы цинка.

Для цитирования: Чекнёв С.Б., Вострова Е.И., Сарычева М.А., Востров А.В. Протективные эффекты катионов цинка в отношении бактерий *Staphylococcus aureus*, подвергающихся воздействию антибиотиков. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии (ЖМЭИ)*. 2019; (6): 5-12.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-6-5-12>

Cheknev S.B., Vostrova E.I., Sarycheva M.A., Vostrov A.V.

PROTECTIVE EFFECTS OF ZINC IONS TOWARDS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BACTERIA EXPOSED WITH ANTIBIOTICS

Federal State Budgetary Institution «National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F.Gamaleya» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 123098, Russia

Objective. The work was performed with the purpose to study susceptibility of *S. aureus* bacteria to the action of the standard spectrum of antibiotics in presence of zinc ions used on the disks with antibiotics or on the lawn of the bacterial culture preliminarily to antibiotics treatment.

Materials and methods. Suspensions of *S. aureus* bacteria which contained 10^8 CFU/ml were sown by the lawns into the standard Petri dishes coated with the supplemented Nutrient Agar. 30 min later the standard disks with antibiotics were passed on the surface

Для корреспонденции: Чекнёв Сергей Борисович, д-р мед. наук, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва. E-mail: cheknev@gamaleya.org

of the lawn, and zinc sulfate was added by the drops of the volume of 5 µl on the surface of the disk. Then the dishes with bacterial cultures were incubated for 24 hrs at 37°C followed by measuring diameter of the area of culture growth inhibition. In some tests preliminarily to the disks with antibiotics passing the places of following disks application were treated with the zinc sulfate for 10 min at the room temperature.

Results and discussion. In presence of 1.0 µg/ml of zinc ions on the disk with antibiotics protective action of the metal towards the bacteria was registered at 2.9 per cent observations. In presence of one, four or eight zinc ions per one molecule of antibiotic protective action was registered at 1.4-5.7 per cent observations. Treatment with zinc ions of the surfaces of lawns followed by the disks installation resulted in 27.3-45.5 per cent observations of reducing diameter of the area of bacterial growth inhibition.

Conclusion. The treatment of the surface of the lawn of *S. aureus* bacteria with zinc ions cause protection of the bacteria from the following inhibitory antibiotics action.

Keywords: *S. aureus*; antibiotics; protection; zinc ions.

For citation: Cheknev S.B., Vostrova E.I., Sarycheva M.A., Vostrov A.V. Protective effects of zinc ions towards *Staphylococcus aureus* bacteria exposed with antibiotics. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii (Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal)*. 2019; (6): 5-12. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-6-5-12>

For correspondence: Sergey B. Cheknev, Doctor of Medical Sciences, Deputy Director for Science, Head of the Lab. of Cell to Cell Interactions, N.F. Gamaleya NRCEM of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 123098, Russia.

E-mail: cheknev@gamaleya.org

Information about authors:

Cheknev S.B., <http://orcid.org/0000-0002-9512-7148>

Vostrova E.I., <http://orcid.org/0000-0002-9214-0590>

Sarycheva M.A., <http://orcid.org/0000-0003-0250-1581>

Vostrov A.V., <http://orcid.org/0000-0003-2834-537X>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 17 July 2019

Accepted 20 October 2019

Введение

Антибактериальные свойства катионов цинка, специфически проявляющиеся, в частности, на клинических изолятах *Streptococcus pyogenes* [1], *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* [2], на шига-токсигенных *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* [3], а также способность металла блокировать развитие SOS-реакций, ведущих посредством индукции гипермутационного процесса к формированию устойчивости бактерий к действию антибиотиков [3], определяют методологию комбинирования цинка с антибактериальными препаратами. По мнению исследователей, это должно повышать эффективность последних в терапии хронических инфекций, поскольку применение классических антибиотиков не позволяет достичь полной элиминации возбудителя и купирования инфекционного процесса [4–6].

Действительно, комплексы цинка с соединениями группы фторхинолонов – левофлоксацином и ципрофлоксацином – за счёт изменения проницаемости клеточной мембраны обладают более высокой антимикробной активностью в отношении бактерий *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и *Bacillus dysenteriae*, чем исходные антибиотики [4, 5]. Связавший цинк и полимеризованный им ванкомицин реализует повышенную активность против резистентных к самому ванкомицину бактерий [6]. В составе эритромицин-цинкового комплекса цинк предотвращает развитие бактериальной резистентности к эритромицину.

В то же время образование антибиотиками комплексов с цинком может приводить не только к повышению, но и к снижению их антимикробного потенциала, что позволяет трактовать взаимодействие металлов с антибиотиками в качестве фактора, в определённой мере препятствующего достижению эффекта антимикробной химиотерапии.

Целью работы стала оценка чувствительности бактерий *S. aureus* к действию стандартного набора антибиотиков при нанесении на диск с антибиотиком катионов цинка или в условиях предобработки катионами цинка газона бактерий.

Материалы и методы

Первичные культуры бактерий *S. aureus* получены принятым методом посева патологического биоматериала человека на элективные и селективные питательные среды. В работе использовали 10 клинических изолятов *S. aureus*, предварительно охарактеризованных по чувствительности к антибактериальным препаратам с использованием диско-диффузионного метода и стандартных условий.

Для постановки реакций стандартизованную суспензию бактерий, полученную из суточных культур *S. aureus* и содержащую 10^8 КОЕ/мл, засеивали газонем из объёма 1,0 мл суспензии в физиологическом растворе на стандартные стерильные чашки Петри диаметром 90 мм с питательным агаром Мюллера–Хинтона (ООО «НИЦФ», Санкт-Петербург). Спустя 30 мин на поверхность газона по стандартному шаблону помещали бумажные диски, пропитанные антибиотиками. Использовали расширенный набор из 14 дисков для определения чувствительности стафилококков к противомикробным лекарственным средствам (№011214, ООО «НИЦФ», Санкт-Петербург).

Катионы цинка применяли в виде водного сульфата $ZnSO_4 \times 7H_2O$ в 0,15 М растворе NaCl (pH 7,16–7,62). Раствор в объёме 5 мкл наносили на диски с антибиотиками непосредственно после их размещения на поверхности газона, добиваясь полного смачивания диска. Искомая концентрация катионов цинка на диске составляла 1,0 мкг/мл или соответствовала одному, четырём или восьми катионам на молекулу антибиотика. В отдельных экспериментах содержащий катионы цинка в искомых концентрациях 0,15 М раствор NaCl (pH 7,6–7,8) в объёме 5 мкл наносили непосредственно на поверхность газона по стандартному шаблону и выдерживали 10 мин экспозиции при комнатной температуре, после чего на местах нанесения катионов цинка размещали диски с антибиотиками.

Чашки Петри, содержавшие размещённые на газоне культуры бактерий *S. aureus* диски с антибиотиками и катионы цинка, инкубировали в течение 24 ч при 37 °С. По истечении срока инкубации результат учитывали, определяя диаметр зоны задержки роста культуры с использованием угловой линейки Partigen (Behringwerke AG, Германия).

Для каждого клинического изолята бактерий использовали не менее двух параллельных постановок.

На препаративном этапе исследования маточный раствор сульфата цинка в 0,15 М NaCl стерилизовали методом мембранной фильтрации с использованием насадок для водно-солевых растворов Millex с диаметром пор 0,22 мкм (Millipore, США), после чего готовили образцы с искомой концентрацией катионов металла в 0,15 М растворе NaCl.

В ходе экспериментов кислотность 0,15 М раствора NaCl контролировали с помощью базового электронного pH-метра Sartorius PB-11, укомплектованного электродом Sartorius PY-P11.

При математической обработке результатов исследования достоверность различия средних величин устанавливали с помощью *t*-критерия Стьюдента.

Результаты

В присутствии на диске с антибиотиком катионов цинка в физиологической концентрации 1,0 мкг/мл зона задержки роста *S. aureus* увеличилась в диаметре на 3,0 мм и более в 8 (5,7%) из 140 наблюдений и уменьшилась на 3,0 мм и более – в 4 (2,9%). Тенденция к повышению чувствительности *S. aureus* проявилась на газоне бактерий, подверженных воздействию клиндамицина, линезолида и левомецетина (по 2 наблюдения); тенденция к снижению чувствительности обнаружилась при обработке газона (другие изоляты) левомецетином (2 наблюдения).

Из наиболее показательных по средним значениям эффектов катионов цинка следует отметить увеличение диаметра зоны задержки роста *S. aureus* в присутствии клиндамицина на 4,1% ($p > 0,1$), в присутствии ванкомицина – на 4,0% ($p < 0,1$).

В присутствии на диске эквимольных по отношению к антибиотику количеств катионов цинка зона задержки роста *S. aureus* увеличилась в диаметре в 10 (7,1%) из 140 наблюдений и уменьшилась в 2 (1,4%). Тенденция к повышению чувствительности *S. aureus* проявилась на газоне бактерий, подверженных воздействию линезолида и ко-тримоксазола (по 2 наблюдения), левомицетина (4 случая).

Наиболее показательно увеличение диаметра зоны задержки роста *S. aureus* в присутствии рифампицина на 3,15% ($p > 0,1$), в присутствии левомицетина – на 11,5% ($p < 0,1$) и уменьшение в присутствии ванкомицина – на 3,4% ($p > 0,1$).

В присутствии на диске четырёх катионов цинка на молекулу антибиотика зона задержки роста *S. aureus* увеличилась в 1 (0,7%) из 140 наблюдений и уменьшилась в 3 (2,1%). В присутствии линезолида диаметр зоны задержки роста *S. aureus* увеличился на 4,5% ($p > 0,1$), доксициклина – на 2,7%, левомицетина – на 2,2%, а в присутствии фузидина натрия уменьшился на 2,9%.

В присутствии на диске восьми катионов цинка на молекулу антибиотика зона задержки роста *S. aureus* увеличилась в 3 (2,1%) из 140 наблюдений и уменьшилась в 8 (5,7%). Тенденция к повышению чувствительности *S. aureus* проявилась на газоне бактерий, подверженных воздействию доксициклина, – 2 наблюдения. Тенденция к снижению чувствительности обнаружилась при обработке газона бензилпенициллином, оксациллином и гентамицином – по 2 наблюдения.

Диаметр зоны задержки роста *S. aureus* в присутствии доксициклина увеличился на 5,4%, в присутствии левомицетина – на 4,4% ($p > 0,1$), тогда как в присутствии бензилпенициллина уменьшился на 4,0%, оксациллина – на 5,6%, эритромицина – на 3,3% ($p > 0,1$), ципрофлоксацина – на 3,3%, левофлоксацина – на 4,2%, фузидина натрия – на 3,5% ($p > 0,1$).

Предобработка газона бактерий в области последующей установки диска с антибиотиком катионами цинка (8 катионов на молекулу антибиотика) способствовала увеличению диаметра зоны задержки роста *S. aureus* на 1,0 мм и более в 4 (12,1%) из 33 проведённых наблюдений и уменьшению на 1,0 мм и более – в 9 (27,3%). Тенденция к повышению чувствительности *S. aureus* проявилась на газоне бактерий, подверженных воздействию оксациллина, – 3 случая. Тенденция к снижению чувствительности обнаружилась при обработке газона ципрофлоксацином, левофлоксацином и фузидином натрия – по 2 наблюдения.

Как показывают данные **табл. 1**, по сравнению с действием катионов цинка, нанесённых на диск с антибиотиком, предобработка газона катионами цинка оказывает на 7,2% ($p < 0,05$) более выраженное протективное действие на бактерии *S. aureus*, которые становятся при этом на 10,5% ($p < 0,01$) более устойчивыми к действию применённого спектра антибиотиков по сравнению с контролем без металла.

Предобработка газона бактерий катионами цинка, применёнными в эквимольном отношении к антибиотику, способствует увеличению диаметра зоны задержки роста *S. aureus* в 1 (3,0%) из 33 наблюдений и уменьшению – в 15 (45,5%). Тенденция к снижению чувствительности обнаружилась при обработке газона оксациллином, левофлоксацином и фузидином натрия – по 3 наблюдения.

Как показывают данные **табл. 2**, по сравнению с действием катионов цинка, нанесённых на диск с антибиотиком, предобработка газона катионами цинка оказывает на 10,4% ($p < 0,05$) более выраженное протективное действие на бактерии *S. aureus*, которые становятся при этом на 9,3% ($p > 0,1$) более устойчивыми к действию применённого спектра антибиотиков, чем в контроле без металла.

Обсуждение

Эволюционная динамика бактериальных популяций в контексте их адаптации к условиям окружающей среды и персистенции в организме хозяина формирует ряд ме-

Таблица 1

Зоны задержки роста *S. aureus* в условиях локальной 10-минутной предобработки газона бактерий катионами цинка ($M \pm m, n = 9$). Восемь катионов цинка на молекулу антибиотика

Группы наблюдения	Зона задержки роста, мм	Протективный эффект, %
Контроль	25,7 ± 0,33	–
Цинк на диске	24,8 ± 0,40	3,5
Цинк – предобработка	23,0 ± 0,44*	7,2
Цинк – предобработка по сравнению с контролем	23,0 ± 0,44**	10,5

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с цинком на диске; ** $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

Таблица 2

Зоны задержки роста *S. aureus* в условиях локальной 10-минутной предобработки газона бактерий катионами цинка ($M \pm m, n = 13$). Один катион цинка на молекулу антибиотика

Группы наблюдения	Зона задержки роста, мм	Протективный эффект, %
Контроль	23,7 ± 0,70	–
Цинк на диске	24,0 ± 0,51	–
Цинк – предобработка	21,5 ± 0,63*	10,4
Цинк – предобработка по сравнению с контролем	21,5 ± 0,63	9,3

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с цинком на диске.

ханизмов, позволяющих бактериям поддерживать режимы продуктивного развития, даже подвергаясь воздействию неблагоприятных факторов макро- и микроокружения. К числу таких механизмов правомерно отнести на первый взгляд не связанные между собой тонкие настройки гомеостаза тяжёлых металлов, в первую очередь цинка, содержание которого в клетках разных видов бактерий поддерживается на достаточно близком уровне при относительно невысоком диапазоне варибельности [7, 8], способность к образованию биоплёнок, существенно повышающих устойчивость микробов к действию токсичных соединений и антибиотиков [9, 10], генерацию популяций персистеров, обеспечивающих бактериям переживание неблагоприятных условий окружения и восстановление в последующем процессов персистенции [11, 12].

Поскольку металлы не синтезируются и не подлежат деградации в биологических системах, поддержание их гомеостаза определяется регуляцией транспортных и обменных процессов между клеткой и окружающей её средой [7]. На ограничение доступности металлов бактериальная клетка отвечает дерепрессией высокоаффинных систем импорта, заменой металлозависимых белков и ферментов на металлонеинзависимые, мобилизацией металла из внутриклеточных депо, перепрограммированием протеома на трансляционную репрессию синтеза менее важных для её жизнеобеспечения ферментов [7].

Первостепенная роль цинка в процессах деления бактериальной клетки и поддержания её жизнедеятельности в ходе инфекционного процесса обуславливает экспрессию бактериями *Streptococcus pneumoniae* специфических импортёров цинка AdcA и AdcAII, продукцию *S. aureus* металлофора стафилолина и высокоаффинных специфических транспортёров, наличие в протеоме *Bacillus subtilis* белков, связывающих цинк с константами порядка 10^{-15} М, которые определяют содержание у бактерий, соответствующих по размерам *B. subtilis*, не более 10^6 атомов цинка на клетку и отсутствие в физиологических условиях полностью гидратированного (свободного) цинка в цитозоле [8].

Активное потребление бактериями катионов цинка, даже в условиях применения относительно низких сублетальных концентраций металла, вызывает форсирование мутагенеза и обогащение *de novo* мутантов, селекционируемых под давлением механизмов отбора на проявление множественной устойчивости к антибиотикам. Одновременно физиологические концентрации цинка (но не кальция или магния) спо-

способствуют формированию биоплёнок *S. aureus*, образующихся с участием фибронектин-связывающих белков [13] и переводящих бактерии в семидормантное состояние. Микроорганизмы оказываются недоступными для распознавания и не подлежат элиминации нейтрофилами и макрофагами организма хозяина, обретая при этом устойчивость к антибиотикам [13].

Биоплёнки *S. aureus*, формирующиеся у бактерий в условиях повышенной агрегации из подобных биоплёнкам кластеров, которые образуются вследствие снижения активности регуляторной системы Agr, ответственной за диспергирование биоплёнок посредством синтеза фенол-растворимых модулинов [9], совокупностью химических, физических и физиологических механизмов, включая факторы фенотипической диверсификации популяций, создают условия для защиты бактерий от антибиотиков, дезинфектантов и тяжёлых металлов [10]. Даже высокие концентрации антибиотиков не эффективны в отношении бактерий *S. aureus*, переведённых в состояние биоплёнки [9, 10].

Вместе с тем биоплёнки стафилококков, как и других патогенных плёнокообразующих бактерий – стрептококков, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, создают условия для проявления генерации или собственно генерации клеток-персистеров, метаболически неактивных клеточных форм, находящихся в дормантном состоянии, близком к некультивируемому, с заблокированными на активную реализацию процессами биосинтеза РНК, ДНК, белков, пептидогликанов и фолиевой кислоты, служащими мишенями воздействия классических антибиотиков [11, 12]. В силу особенностей метаболизма и физиологического состояния персистеры защищены от действия классических антибиотиков и тяжёлых металлов [11, 12, 14, 15], активно экспрессируют энергозависимый экспортирующий белок TolC, способствующий эффективному выведению токсичных соединений из клетки [14], гены шаперонов, регулоны множественной устойчивости к антибиотикам, белки холодового шока [10], определяются в клеточных биоплёнках в количествах, в тысячи раз превышающих содержание этих клеточных форм в планктонных популяциях [10]. Для разработки средств борьбы с такими персистентными инфекциями требуются принципиально иные, нежели основанные на воздействии на активные метаболические процессы в популяции возбудителей, подходы к антимикробной химиотерапии [11, 12, 15].

В контексте описанных механизмов переживания бактериями неблагоприятных условий существования даже кратковременная экспозиция с катионами цинка индуцирует переход возбудителей в некультивируемое состояние, связанное с генерацией клеток-персистеров. Реализация эффектов катионов в ходе образования биоплёнок *S. aureus* с участием фибронектин-связывающих белков происходит на стадии, следующей сразу за первичным прилипанием [13]. В полностью сформированных биоплёнках *E. coli* цинк не проникает глубоко и действует по поверхности матрикса [10].

Следовательно, обменные процессы, связанные с транспортом катионов цинка, образование биоплёнок и генерация персистеров обоснованно представляются механизмами обеспечения переживания бактериальных популяций, имеющими глубокие, последовательно реализуемые причинно-следственные связи, в совокупность которых катионы цинка вовлечены на инициальных и ранних постинициальных этапах [10, 13].

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о протективном действии катионов цинка, нанесённых на диск с антибиотиком, в отношении бактерий *S. aureus*, подвергающихся воздействию этого антибиотика. Эффект реализуется при использовании физиологической концентрации цинка (протекция бактерий в 2,9% наблюдений) и в присутствии на диске одного, четырёх или восьми катионов цинка на молекулу антибиотика (последовательное нарастание от 1,4 до 5,7% случаев протекции). При этом наиболее выраженное протективное действие катионов (от 27,3 до 45,5% наблюдений в селекционированных по чувствительности изолятах) отмечено в условиях 10-минутной предобработки газона бактерий катионами цинка на местах последующей установки диска с антибиотиком. В этих опытах до половины наблюдений демонстрировали очевидное протективное действие определённой концентрации катионов цинка (см. табл. 1 и 2).

Можно спорить о том, насколько правомерно сравнение начальных этапов формирования газона бактерий с инициальными стадиями образования биоплёнок и рассмотрение краткосрочной экспозиции катионов цинка с клетками на формирующемся газоне в качестве подобия дисперсии катионов по поверхности плёнки [10, 13], но не подлежит сомнению высочайшая скорость реагирования микробов на присутствие тяжёлого металла, отражающая быстрое включение механизмов стрессовых реакций в условиях реализации токсического воздействия. Произведённые расчёты показывают, что концентрации цинка в местах предобработки газона бактерий, ответивших на воздействие металла снижением чувствительности к антибиотикам, по отношению к которым они и были подобраны, варьировали в диапазоне от 0,25 до 2,0 мг/мл, а в отдельных наблюдениях достигали 8,0 мг/мл, т.е. более чем на 3 порядка превышали физиологические и следовательно могут оцениваться в качестве токсичных.

Снижение чувствительности бактерий к антибиотикам выступает естественным следствием немедленного включения *S. aureus* механизмов протекции популяции от токсического воздействия тяжёлого металла, общность которых с механизмами защиты бактерий от других неблагоприятных воздействий хорошо документирована в научной периодике [10].

Заключение

В совокупности современных представлений о природе и путях возникновения множественной лекарственной устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний человека, связывающих динамическое нарастание количества резистентных к антибиотикам и другим антимикробным препаратам бактерий с наличием в экосистеме доступных микробам меди и цинка в условиях продолжающегося нарастания содержания тяжёлых металлов в окружающей среде, появляется важнейшая временная категория, определяющая эволюционную динамику резистентности как процесс, запускаемый импульсным воздействием тяжёлых металлов, конкретно – цинка, и, не исключено, не контролируемый в дальнейшем для подвергшейся такому воздействию популяции бактерий меняющимися условиями окружения.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3-15 см. REFERENCES)

1. Чекнёв С.Б., Вострова Е.И., Сарычева М.А., Кисиль С.В., Анисимов В.В., Востров А.В. Торможение роста бактерий в культурах *Streptococcus pyogenes* и *Streptococcus agalactiae* в присутствии катионов меди и цинка. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; (3): 26-35.
2. Чекнёв С.Б., Вострова Е.И., Аapresова М.А., Писковская Л.С., Востров А.В. Торможение роста бактерий в культурах *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* в присутствии катионов меди и цинка. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; (2): 9-17.

REFERENCES

1. Cheknev S.B., Vostrova E.I., Sarycheva M.A., Kasil' S.V., Anisimov V.V., Vostrov A.V. Inhibition of the bacterial growth in the cultures of *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae* in presence of copper and zinc ions. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2017; (3): 26-35. (in Russian)
2. Cheknev S.B., Vostrova E.I., Apresova M.A., Piskovskaya L.S., Vostrov A.V. Deceleration of bacterial growth in *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* cultures in the presence of copper and zinc cations. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2015; (2): 9-17. (in Russian)
3. Bunnell B.E., Escobar J.F., Bair K.L., Sutton M.D., Crane J.K. Zinc blocks SOS-induced antibiotic resistance via inhibition of RecA in *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2017; 12(5): e0178303. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178303>
4. Chohan Z.H., Supuran C.T., Scozzafava A. Metal binding and antibacterial activity of ciprofloxacin complexes. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2005; 20(3): 303-7. Doi: <https://doi.org/10.1080/14756360310001624948>
5. Uivarosi V. Metal complexes of quinolone antibiotics and their applications: an update. *Molecules*. 2013; 18(9): 11153-97. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules180911153>
6. Zarkan A., Mackline H.R., Chirgadze D.Y., Bond A.D., Hesketh A.R., Hong H.J. Zn(II) mediates vancomycin polymerization and potentiates its antibiotic activity against resistant bacteria. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 4893. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04868-2>

7. Chandrangsu P., Rensing C., Helmann J.D. Metal homeostasis and resistance in bacteria. *Nature Rev. Microbiol.* 2017; 15(6): 338-50. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.15>
8. Ma Z., Chandrangsu P., Helmann T.C., Romsang A., Gaballa A., Helmann D. Bacillithiol is a major buffer of the labile zinc pool in *Bacillus subtilis*. *Molec. Microbiol.* 2014; 94(4): 756-70. Doi: <https://doi.org/10.1111/mmi.12794>
9. Dastgheyb S.S., Villaruz A.E., Le K.Y., Tan V.Y., Duong A.C., Chatterjee S.S., et al. Role of phenol-soluble modulins in formation of *Staphylococcus aureus* biofilms in synovial fluid. *Infect. Immun.* 2015; 83(7): 2966-75. Doi: <https://doi.org/10.1128/IAI.00394-15>
10. Harrison J.J., Ceri H., Turner R.J. Multimetal resistance and tolerance in microbial biofilms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5(12): 928-38.
11. Hurdle J.G., Deshpande A. Bacterial persister cells tackled. *Nature.* 2018; 556(7699): 40-1. Doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-018-03440-w>
12. Hurdle J.G., O'Neill A.J., Chopra I., Lee R.E. Targeting bacterial membrane function: an underexploited mechanism for treating persistent infections. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011; 9(1): 62-75. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2474>
13. Geoghegan J.A., Monk I.R., O'Gara J.P., Foster T.J. Subdomains N2N3 of fibronectin binding protein A mediate *Staphylococcus aureus* biofilm formation and adherence to fibrinogen using distinct mechanisms. *J. Bacteriol.* 2013; 195(11): 2675-83. Doi: <https://doi.org/10.1128/JB.02128-12>
14. Gerdes K., Semsey S. Pumping persisters. *Nature.* 2016; 534(7605): 41-2. Doi: <https://doi.org/10.1038/nature18442>
15. Kim W., Zhu W., Hendricks G.L., Van Tyne D., Steele A.D., Keohane C.E., et al. A new class of synthetic retinoid antibiotics effective against bacterial persisters. *Nature.* 2018; 556(7699): 103-7. Doi: <https://doi.org/10.1038/nature26157>

Поступила 17.07.19

Принята в печать 20.10.19