

УДК 579.6

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК К БАКТЕРИОФАГУ С ПОМОЩЬЮ КОМПАКТНОГО АКУСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА

© 2025 г. О. И. Гулий<sup>1,\*</sup>, Б. Д. Зайцев<sup>2</sup>, О. А. Караваева<sup>1</sup>, И. А. Бородина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов — обособленное структурное подразделение  
Федерального исследовательского центра “Саратовский научный центр Российской академии наук”,  
Саратов, 410049 Россия

<sup>2</sup>Саратовский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, Саратов, 410019 Россия

\*e-mail: gulyi\_olga@mail.ru

Поступила в редакцию 11.06.2024 г.

После доработки 21.06.2024 г.

Принята к публикации 05.07.2024 г.

В работе впервые продемонстрированы возможности компактной акустической сенсорной системы для оценки воздействия бактериофагов на микробные клетки и оценки их чувствительности к бактериофагам. Установлено, что с помощью разработанной системы можно оценить активность бактериофагов в отношении микробных клеток в течение 5 мин без учета времени культивирования микробных клеток для проведения анализа. Полученные результаты являются перспективными для дальнейшего развития акустической сенсорной системы при фаготерапии.

**Ключевые слова:** бактериофаг, микробная клетка, фаготерапия, акустический компактный анализатор

**DOI:** 10.31857/S0555109925020103 **EDN:** EPBUYQ

Бактериофаги представляют собой вирусы, которые поражают бактериальные клетки. Данные вирусы распознают рецепторы на поверхности бактерий, вводят свой генетический материал в клетку и индуцируют репликацию вирионов с использованием ферментативного аппарата хозяина [1]. Бактериофаги считаются наиболее распространенной и древней группой вирусов в биосфере [2]. По предварительным оценкам в природе встречаются более  $10^{30}$  фаговых частиц, что в 2–10 раз больше численности бактерий чувствительных к ним [3]. Открытие бактериофагов английским бактериологом и вирусологом Ф. Туортом в 1915 г. и франко-канадским микробиологом Ф. д’Эреллем в 1917 г. и изучение их антимикробных свойств привели к разработке первых фаговых препаратов [4]. В 1930 гг. применение бактериофагов в лечении инфекционных заболеваний достигло своего апогея. Однако открытие антибиотиков и связанный с ним быстрый прогресс в их практическом использовании сменили золотые годы фаготерапии на затишье. Тем не менее, фаготерапию продолжали практиковать в России, Грузии и странах

Восточной Европы [5]. В течение последних двадцати лет использование фагов в медицине вновь стали рассматривать как перспективный метод борьбы с инфекциями, который способен снизить распространение возбудителей, обладающих множественной лекарственной устойчивостью [6]. В отличие от антибиотиков, бактериофаги способны преодолевать бактериальную резистентность [7], однако механизмы, лежащие в основе этого явления, изучены пока фрагментарно [8–10]. Ключевым преимуществом фагов перед антибиотиками является то, что они не нарушают микрофлору кишечника [11]. Основным недостатком бактериофагов является то, что они не могут размножаться, если специфичный патоген отсутствует, и иммунная система хозяина может распознать их как возбудителей и нейтрализовать [9, 10]. К основным преимуществам применения бактериофагов можно отнести следующие:

- бактериофаги обладают чрезвычайно высокой специфичностью по отношению к клеткам-хозяевам и способны различать мертвые и живые бактерии [12];

- бактериофаги могут производить большое количество фагов — потомков после заражения бактерий-хозяев, что способствует размножению бактериофагов и в конечном итоге приводит к низким производственным затратам, в отличие от антибиотиков [13];

- бактериофаги относительно стабильны в различных условиях и могут сопротивляться действию различных ферментов [14];

- бактериофаги обладают различными активными центрами, которые можно химически модифицировать для получения новых функциональных групп [15]. Кроме того, пептиды или наноматериалы могут быть модифицированы на их поверхности для улучшения чувствительности и селективности метода детекции [16];

- бактериофаги безопасны и не токсичны, и широко применяются у новорожденных детей, беременных и кормящих женщин, поскольку побочные эффекты встречаются редко;

- действие бактериофагов не затрагивает полезную микрофлору организма в отличие от антибиотиков;

- бактериофаги совместимы со всеми лекарственными препаратами и их применение не ограничивает использование других лекарств и не влияет на их эффективность;

- бактериофаги воздействуют лишь на чувствительные к ним болезнетворные бактерии, вызывающие инфекционное заболевание, разрушая их изнутри;

- бактериофаги выводятся из организма естественным путем.

В связи с развитием антибиотикорезистентности бактерий, бактериофаги (фаги) представляют собой альтернативу или дополнение к антибиотикотерапии [2, 17]. На сегодняшний день накоплено достаточно сведений об эффективности применения бактериофагов при лечении раневых инфекций [2, 18]. В одной из первых работ по изучению роли фаговых препаратов в борьбе с раневыми инфекциями [19], вызываемыми биопленками бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, показана возможность их использования при процедуре пересадки кожи. Результаты данных исследований подтвердили, что нанесение фага BS24 защищает трансплантаты от бактериального заражения и препятствует их отторжению [19]. В работе [20] было установлено, что рана, инфицированная биопленками бактерий *Staphylococcus aureus* и *Paeruginosa*, после обработки фаговым препаратом заживает заметно быстрее. В то же время, обработка раневой поверхности фагами, активными в отношении бактерий *Acinetobacter baumannii*, способствует уменьшению количества патогенов в месте инфицирования [20].

В работе [2] показана эффективность смеси из трех фагов *Myoviridae* для снижения бактериальной нагрузки и закрытия ран при лечении диабетических раневых инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus* с множественной лекарственной устойчивостью. Показано, что лечение бактериофагами снижало бактериальную нагрузку с эффективностью, аналогичной или превосходящей лечение ванкомицином. Заживление ран у мышей, обработанных фагом, было сходным с лечением ванкомицином. При этом смертность, связанная с инфекциями, не была зарегистрирована, а посмертные исследования не выявили каких-либо очевидных патологических поражений, кроме кожных ран. Никаких побочных эффектов, связанных с применением фагов, не наблюдалось.

Поскольку чувствительность бактерий к бактериофагам является относительно стабильным признаком, связанным с наличием соответствующих рецепторов на клеточной поверхности, изучение взаимодействия бактериофагов с микробной клеткой имеет первостепенное значение при фототерапии для определения фагочувствительности микробных клеток. Основной целью определения чувствительности микроорганизмов к бактериофагам является прогнозирование их эффективности при лечении инфекций.

Цель работы — разработка метода оценки воздействия бактериофагов на микробные клетки для определения их фагочувствительности с помощью акустической сенсорной системы на основе компактного анализатора.

## МЕТОДИКА

**Микроорганизмы.** В работе использовали микроорганизмы *Escherichia coli* штамма TG1 и *Azospirillum baldaniorum* Sp245 [IBPPM 219] (ранее *A. brasilense* Sp245 [21]), полученные из коллекции ризосферных микроорганизмов в Институте биохимии и физиологии растений и микроорганизмов (ИБФРМ) РАН (<http://collection.ibppm.ru/>).

Клетки выращивали в колбах Эрленмейера емкостью 250 мл, содержащих жидкую питательную среду Лурии-Бертани (LB) следующего состава (г/л): NaCl — 5.0; пептон (“Becton, Dickinson”, США) — 10.0; и дрожжевой экстракт (“DIFCO”, США) — 5.0 при  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  в условиях интенсивной аэрации (160 об./мин) в течение 18 ч. Затем микробные клетки подготавливали для проведения анализа, как описано в работе [22].

Клетки культивировали до достижения экспоненциальной фазы бактериального роста (клетки были метаболически гомогенными).

В качестве модельной системы использовали *E. coli* TG1 и специфичный им бактериофаг M13K07 (семейство *Inoviridae*, коммерческий

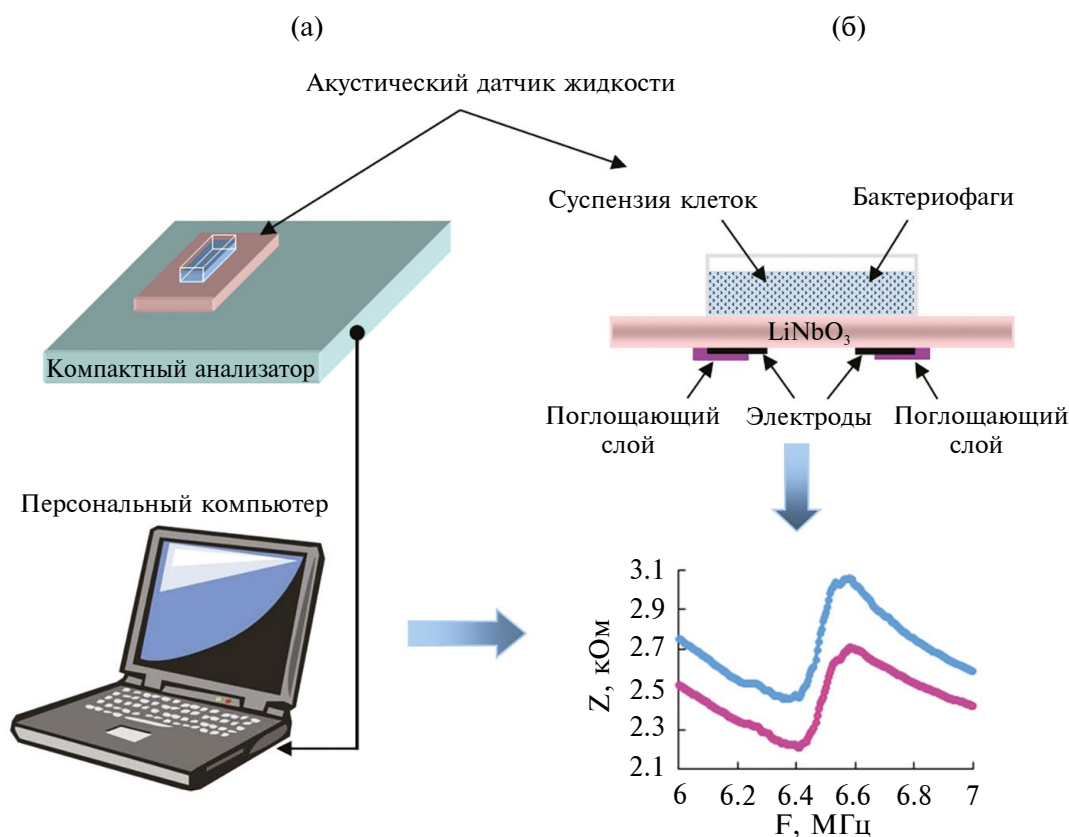
препарат производства “Stratagene”, Швеция), был сконструирован из фага дикого типа M13 [23, 24]. Выбор данной модельной системы обусловлен тем, что бактериофаг M13K07 и процесс заражения им *E. coli* хорошо описаны в литературе [25–28]. Структура M13 обладает высокой термостойкостью и устойчивостью к химическим и механическим воздействиям, даже к неполярной органике [29–32].

Количество вирусных частиц определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Specord BS 250 UV-VIS (“Analytik Jena”, Германия), как описано в работе [33] в Центре коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии “Симбиоз” ИБФРМ РАН.

**Подсчет колоний.** Жизнеспособность бактерий определяли способностью клеток делиться, поэтому микробиологический анализ численности бактерий проводили после их нагревания до 30, 50, 80 и 100°C в термостате LOIP TR-2 (ЗАО “Приборное оборудование и Приборы”, Россия) путем посева на плотную среду LB и подсчета количества выросших колоний.

#### Акустический анализатор и методика измерений.

Измерения активности вирусных частиц в отношении микробных клеток проводили с помощью разработанного компактного акустического анализатора, который был создан на основе резонатора с поперечным электрическим полем на базе электронного конструктора Arduino (Arduino Hardware, Китай). Анализатор измеряет зависимость модуля электрического импеданса резонатора от частоты и передает измеренные данные в персональный компьютер. Компактный измеритель состоит из генератора гармонического сигнала, измерителя высокочастотного (ВЧ) напряжения на резонаторе с поперечным электрическим полем и измерителя тока, протекающего через этот резонатор [34]. Устройство соединяется с персональным компьютером. На рис. 1а представлен внешний вид компактного акустического анализатора и общая схема жидкостного датчика (рис. 1б) на основе резонатора с поперечным электрическим полем. Резонатор изготовлен из пьезоэлектрической пластины ниобата лития толщиной 500 мкм. На одной стороне пластины нанесены два алюминиевых электрода, а область вокруг электродов и часть электродов покрыты специальным поглощающим слоем, который подавляет паразитные волны в резонаторе



**Рис. 1.** Схематическое изображение компактного акустического анализатора, совмещенного с персональным компьютером (а); схема акустического датчика жидкости на основе резонатора с поперечным электрическим полем (б).

и обеспечивает чистый сигнал на выходе устройства. В результате получается гладкая, без посторонних шумов, частотная зависимость модуля электрического импеданса резонатора. На другой стороне пластины находится жидкостный контейнер с исследуемой суспензией клеток. Таким образом, чувствительная поверхность резонатора граничит с исследуемой жидкостью. Принцип действия датчика основан на изменении модуля электрического импеданса пьезоэлектрического резонатора в результате взаимодействия микробных клеток со специфичными бактериофагами. Общая схема проведения экспериментов представлена на рис. 2.

В жидкостный контейнер компактного биоанализатора вносили подготовленную суспензию клеток с заданной плотностью и проводили измерение частотных зависимостей модуля электрического импеданса датчика. Затем к суспензии клеток добавляли бактериофаг и регистрировали изменения сигнала датчика. Аналитическим сигналом служило изменение модуля электрического импеданса датчика после взаимодействия микроб-

ных клеток с бактериофагом. Время регистрации аналитического сигнала составляло  $\sim 5$  мин. Все эксперименты проводились не менее чем пять раз. Относительная погрешность результатов измерений исследуемых образцов составляла  $\pm 2\%$ , то есть при проведении нескольких экспериментов с одним и тем же образцом значения модуля электрического импеданса имеют разброс значений на любой частоте в пределах  $\pm 2\%$ . Данные статистически обрабатывались по стандартным процедурам, интегрированным в программу Excel 2007 (Microsoft Corp., USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе измерений в жидкостный контейнер вносили 1 мл дистиллированной воды и измеряли частотную зависимость модуля электрического импеданса акустического анализатора. Затем в контейнер с водой добавляли 5 мкл бактериофага M13K07 и анализировали изменения аналитического сигнала. Было установлено, что после добавления бактериофага к воде показания

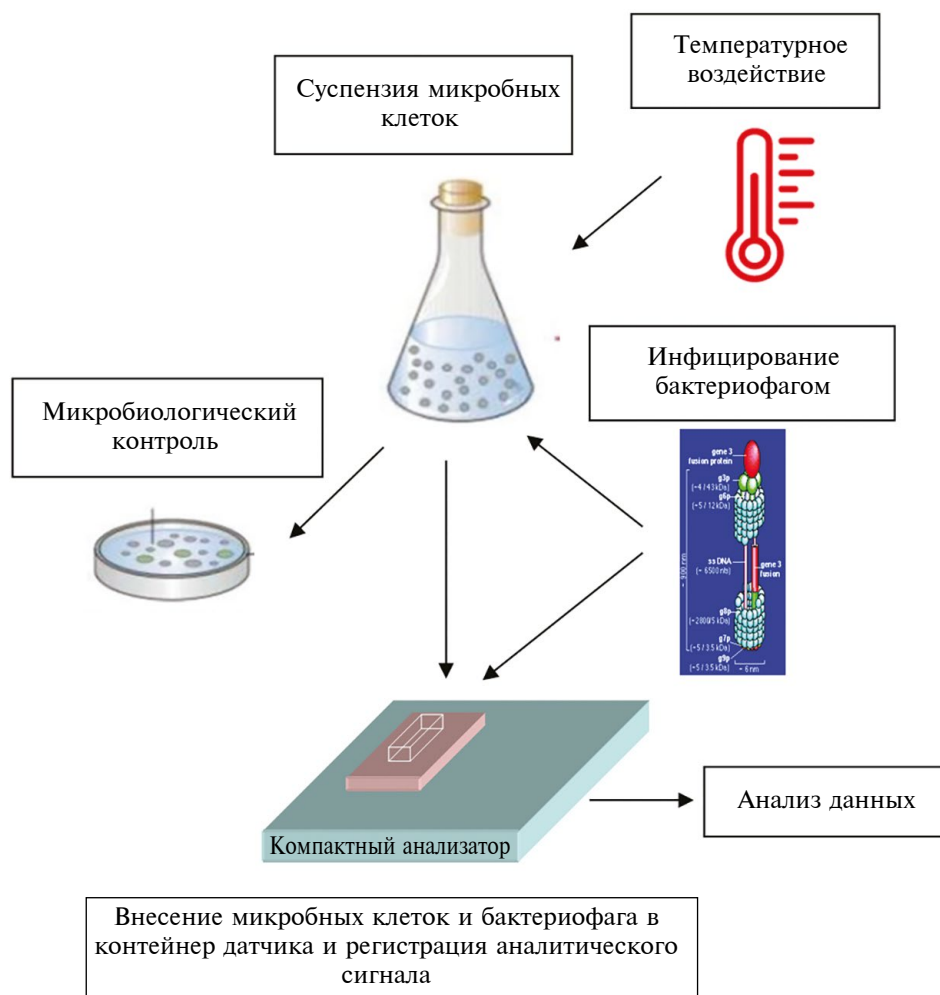


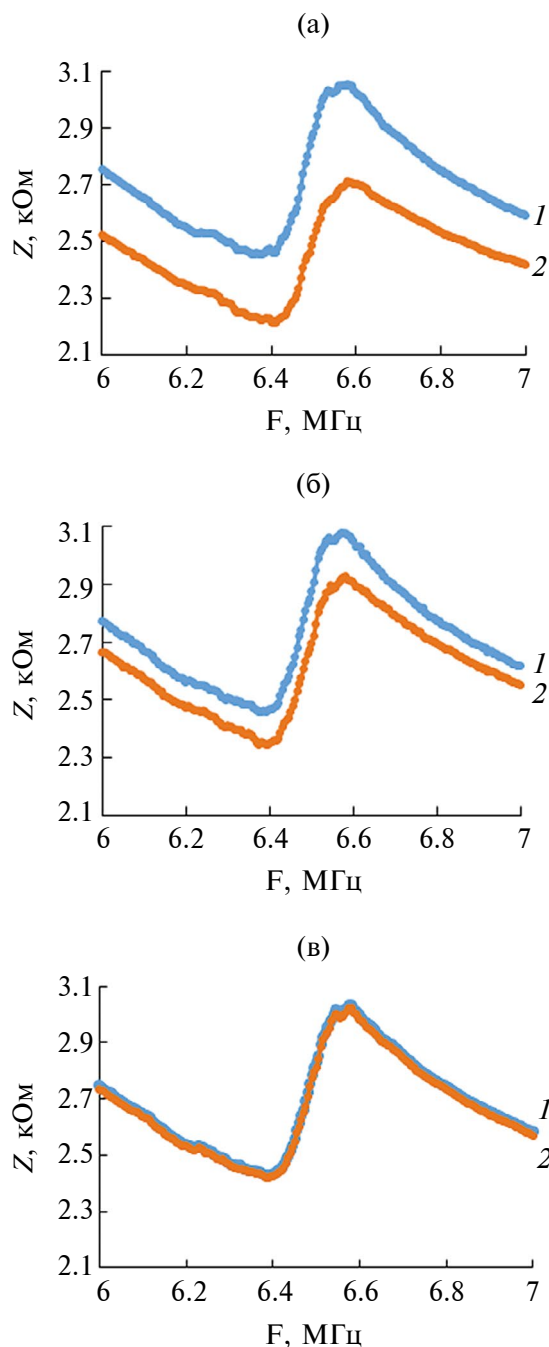
Рис. 2. Общая схема эксперимента.

датчика не изменились, таким образом показано, что добавление бактериофага к воде не меняет массовую нагрузку на акустический резонатор.

Первичным рецептором для бактериофага M13 служат F-пили бактерий, с которыми на начальных этапах инфекции связывается капсидный белок вируса g3p (gene 3 protein). Дальнейшее связывание g3p с мембранным белком TolA клетки — хозяина приводит к проникновению ДНК бактериофага в цитоплазму [25]. Для регистрации адсорбции бактериофага использовали клетки *E. coli* TG1, которые несут F-эписому и образуют F-пили, поэтому могут быть заражены бактериофагом M13 [23].

Для проведения измерений суспензию клеток *E. coli* TG1 разводили в дистиллированной воде (проводимость 4 мкСм/см) до плотности  $10^3$  кл./мл. Далее 1 мл клеточной суспензии вносили в контейнер акустического анализатора и измеряли частотную зависимость модуля электрического импеданса датчика. Затем к суспензии клеток добавляли 5 мкл бактериофага M13K07 с концентрацией  $10^{12}$  фагов/мл и регистрировали изменения аналитического сигнала датчика. На рис. 3а представлены частотные зависимости модуля электрического импеданса датчика, нагруженного суспензией микробных клеток до (кривая 1) и после (кривая 2) добавления специфического бактериофага. Эти измерения проводили при температуре 30°C. Видно, что добавление к клеткам специфического бактериофага приводило к существенному уменьшению модуля электрического импеданса резонатора. Это может быть объяснено изменением проводимости клеточной суспензии вследствие специфической адсорбции бактериофага на поверхности микробных клеток и последующей транслокации фаговой ДНК в клетку. Согласно литературным данным транслокация фаговой ДНК происходит при участии бактериальных белков TolQ, TolR, и TolA, после того как пили, предположительно, вытягиваются обратно, перенося фаг к бактериальной поверхности [25].

Специфичность фагово-бактериальных взаимодействий в большинстве случаев определяется процессом адсорбции. Адсорбция является первым критическим этапом в процессе инфицирования клетки хозяина, от успешности протекания которого зависит жизненный цикл вируса [35]. На поверхности головок бактериофагов встречаются иммуноглобулиноподобные домены (Ig-подобные домены), способные взаимодействовать с углеводами на поверхности клетки, что способствует адсорбции бактериофага [17, 36, 37]. Вирусы, как субмикроскопические надмолекулярные белково-нуклеиновые комплексы, представляют собой внутриклеточные паразитарные формы жизни, способные к самовоспроизведению исключительно в клетках живых организмов, как прокариот, так и эукариот [38]. Несмотря на то, что патогенный механизм действия вирусов разнообразен,



**Рис. 3.** Частотные зависимости модуля электрического импеданса акустического анализатора до, кривая 1, и после, кривая 2, добавления бактериофага M13K07 к клеткам *E. coli* при различных температурах воздействия на микробные клетки: 30 (а); 50 (б); 100°C (в).

всем существующим вирусным частицам для поддержания жизнедеятельности необходима клетка хозяина [39]. Бактериофаги адсорбируются и инфицируют только жизнеспособные (метаболически активные) микробные клетки. Поэтому важно



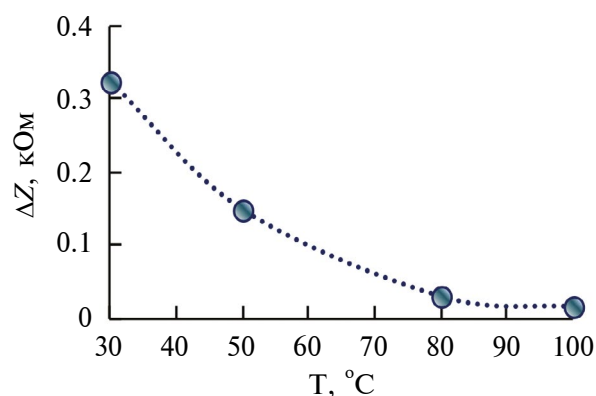
оценить перспективность применения разрабатываемой методики для анализа взаимодействия бактериофага с жизнеспособными микробными клетками в присутствии бактерий с поврежденной мембраной (клетки считаются мертвыми или умирающими). Для этого провели серию экспериментов с температурным воздействием на микробные клетки. Суспензию микробных клеток нагревали в термостате LOIP TR-2 (Россия) до температуры 50, 80 и 100°C. Затем суспензию микробных клеток охлаждали до 30°C, добавляли в контейнер анализатора и проводили измерения параметров анализатора до и после добавления бактериофага к суспензии микробных клеток. Во всех измерениях использовали одну и ту же плотность клеток  $10^3$  кл./мл и один и тот же объем бактериофага M13K07 5 мкл (с концентрацией  $10^{12}$  фагов/мл), при объеме клеточной суспензии в контейнере 1 мл. На рис. 3 представлены частотные зависимости модуля электрического импеданса акустического анализатора до (кривые 1) и после (кривые 2) добавления бактериофага к суспензии клеток, которая выдерживалась при температуре 30°C (рис. 3а), 50°C (рис. 3б) и 100°C (рис. 3в). Видно, что взаимодействие специфичных бактериофагов с клетками после их нагревания до 50°C приводило к меньшему изменению модуля электрического импеданса датчика по сравнению с клетками, выдержанными при 30°C. Также видно, что в случае нагрева бактериальных клеток до 100°C взаимодействие с бактериофагами отсутствовало (рис. 3в), то есть добавление бактериофагов не изменяло модуль электрического импеданса датчика.

На основе полученных частотных зависимостей была построена зависимость изменения модуля электрического импеданса датчика ( $\Delta Z$ ) на частоте 6.6 МГц от температуры воздействия на микробные клетки (рис. 4). Как видно из представленной на рис. 4 зависимости, изменение модуля электрического импеданса датчика плавно уменьшалось с 0.323 кОм (клетки при 30°C) до 0.0016 (клетки при 100°C).

Очевидно, что регистрируемое изменение сигнала датчика после воздействия высокой температуры на бактерии связано со снижением их жизнеспособности. Поэтому в качестве контроля использовали микробиологический посев клеток на плотную питательную среду. Данные для клеточных колоний, полученные после посева, а также изменение модуля электрического импеданса датчика после температурного воздействия на суспензию микробных клеток приведены в табл. 1.

Таким образом, с помощью компактного акустического анализатора можно оценить взаимодействие бактериофага с чувствительными к нему микробными жизнеспособными клетками.

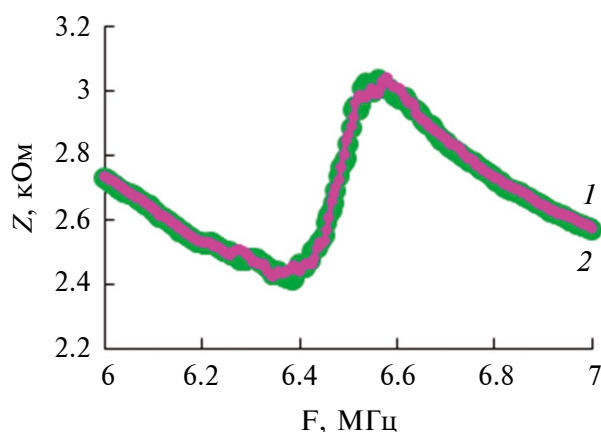
Одним из важных моментов при разработке метода оценки фагочувствительности бактерий



**Рис. 4.** Зависимость изменения модуля электрического импеданса ( $\Delta Z$ ) от температуры воздействия на суспензию микробных клеток *E. coli* на частоте 6.6 МГц.

**Таблица 1.** Влияние температуры на количество клеток *E. coli* в суспензии и величину изменения модуля электрического импеданса датчика на частоте 6.6 МГц при инфицировании микробных клеток бактериофагом M13K07

| Температура, °C | Количество колоний, кл./мл | Изменение модуля электрического импеданса датчика ( $\Delta Z$ ), кОм |
|-----------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 30              | $4.0 \times 10^3$          | 0.323                                                                 |
| 50              | $2 \times 10^2$            | 0.149                                                                 |
| 80              | 1                          | 0.03                                                                  |
| 100             | 1                          | 0.0016                                                                |



**Рис. 5.** Частотные зависимости модуля электрического импеданса акустического анализатора с суспензией микробных клеток *Sr 245* до (кривая 1) и после (кривая 2) добавления бактериофага M13K07.

является отработка метода с использованием представителей других таксономических групп. Для этого использовали бактерии *Azospirillum baldaniorum* Sp245. Выбор этой культуры обусловлен близкими размерами с клетками *E. coli*. На рис. 5 представлены частотные зависимости модуля электрического импеданса акустического анализатора с суспензией микробных клеток Sp245 до (кривая 1) и после (кривая 2) добавления бактериофага M13K07. Видно, что воздействие бактериофага не приводит к изменению параметров акустического анализатора. Таким образом, показано, что с помощью датчика можно оценить восприимчивость бактерий к бактериофагу.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на то, что традиционные антибиотики до сих пор играют значительную роль при лечении заболеваний, вызванных чувствительными к ним болезнетворными бактериями, они постепенно теряют свою противомикробную эффективность в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. ВОЗ предупреждает, что мир вскоре вступит в “постантибиотиковую” эру, когда лечить обычные бактериальные инфекции будет нечем. И на этом фоне фаготерапия выглядит весьма перспективным направлением, развитие которого может привести к созданию эффективных персонализированных методов лечения заболеваний. Для этого есть как необходимые знания о фагах и механизмах их взаимодействия с бактериальными клетками, так и технологии работы с вирусными агентами.

Проводятся клинические испытания генно-инженерных и синтетических бактериофагов, они подвергаются тщательному изучению с точки зрения безопасности их использования. Однако даже при отсутствии данных об эффективности клинических испытаний, многие страны (например, США, Бельгия, Франция, Швеция, Австралия и Соединенное Королевство) создали “параллельный путь”, в котором фаговая терапия может быть использована в тех случаях, когда антибиотики оказались неэффективными. Существует также большой потенциал фаговых препаратов для значительного сокращения использования антибиотиков в сельском хозяйстве, аквакультуре, животноводстве, ветеринарной медицине [40, 41].

Одним из ограничений по применению бактериофагов является необходимость развития быстрых методов оценки чувствительности бактерий к бактериофагу. Микробиологические методы, используемые для определения диапазона активности бактериофагов основаны на способности фагов инфицировать и лизировать бактерии, образуя зоны клиренса. Прозрачные бляшки указывают на литическую активность, тогда как

мутные бляшки могут свидетельствовать о лизогенной активности. Преимущества этих методов включают низкую стоимость и возможность скрининга нескольких фагов одновременно. К недостаткам относятся ограничения, связанные с наблюдениями невооруженным глазом и необходимостью затрачивать не менее 12–24 ч для получения результатов литической активности. Анализы, использующие жидкостный метод, позволяют оценить кинетические взаимодействия бактериофагов в режиме реального времени, что является преимуществом перед анализом на основе бляшек. Описаны способы оценки воздействия бактериофага на бактерии с помощью регистрации изменения клеточного дыхания, оценки снижения метаболической активности бактерий, измерения оптической плотности, использования методов проточной цитометрии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии [42, 43].

В последнее время разрабатываются новые методы диагностики активности бактериофагов для сокращения времени анализа при фаговой терапии. Например, в работе [44] описан способ на основе гидрогеля для анализа чувствительности к жидким фагам для терапевтических целей, при этом время анализа составляет около 3 ч.

Для облегчения и ускорения диагностики чувствительности бактерий к бактериофагам во время фаготерапии разработан специальный безлинзовый визуализирующий прибор с широким полем зрения. С его помощью можно оценить чувствительность к фагу золотистого стафилококка через 3 ч и определить инфекционный титр в течение 8 ч 20 мин, что значительно быстрее, чем традиционными методами (12–24 ч) [45]. Таким образом, очевидно, что для преодоления ограничений, связанных с традиционными методами определения чувствительности бактерий к бактериофагам, необходима разработка альтернативных высокочувствительных и специфичных диагностических тест-систем. Внедрение новых методов позволит ускорить процесс получения информации о чувствительности бактерий к бактериофагам и инициировать необходимые мероприятия по фаготерапии.

В данной работе представлен быстрый и стабильный метод оценки воздействия бактериофага на бактерии с помощью компактной акустической сенсорной платформы. Время анализа составляет около 5 мин. Несомненно, отдельно будет учитываться время роста бактерий, которое является различным для каждой культуры. Описанный метод имеет ряд преимуществ при необходимости быстрого скрининга активности бактериофагов, которые заключаются в простоте применения и возможности многократного использования сенсорной системы после ее очистки от анализируемого образца.

\* \* \*

В работе продемонстрирована возможность оценки чувствительности микробных клеток к воздействию бактериофага с помощью компактного акустического анализатора на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем. В целом полученные результаты перспективны для разработки методов оценки чувствительности бактериофагов и дальнейшего использования в фаготерапии.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания Саратовскому научному центру РАН (124020100147-6) и Институту радиотехники и электроники им. Котельникова РАН (FFWZ-2025-0001).

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sulakvelidze A., Alavidze Z., Morris J.G. Jr. // Antimicrob. Agents Chemother. 2001. V. 45. № 3. P. 649–659.*  
<https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.649-659.2001>
2. *Kifelew L.G., Warner M.S., Morales S., Vaughan L., Woodman R., Fitridge R. et al. // BMC Microbiol. 2020. V. 20. № 1. P. 204.*  
<https://doi.org/10.1186/s12866-020-01891-8>
3. *Macdonald K.E., Stacey H.J., Harkin G., Hall L.M.L., Young M.J., Jones J.D. // PLoS ONE. 2020. V. 15. e0243947.*  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243947>
4. *Chanishvili N. // Adv. Virus Res. 2012. V. 83. P. 3–40.*  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394438-2.00001-3>
5. *Horcajada J.P., Montero M., Oliver A., Sorlí L., Luque S., Gómez-Zorrilla S. et al. // Clin. Microbiol. Rev. 2019. V. 32. № 4. e00031-19.*  
<https://doi.org/10.1128/CMR.00031-19>
6. *Mandal S.M., Roy A., Ghosh A.K., Hazra T.K., Basak A., Franco O.L. // Front. Pharmacol. 2014. V. 5. P. 105.*  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00105>
7. *Pirnay J.P., Ferry T., Resch G. // FEMS Microbiol. Rev. 2022. V. 46. № 1.*  
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuab040>
8. *Botka T., Pantůček R., Mašlaňová I., Benešík M., Petráš P., Růžicková V. et al. // Sci. Rep. 2019. V. 9. P. 5475.*  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-41868-w>
9. *Taati Moghadam M., Amirmozafari N., Shariati A., Hallajzadeh M., Mirkalantari S., Khoshbayan A., Masjedani Jazi F. // Infect. Drug. Resist. 2020. V. 13. P. 45–61.*  
<https://doi.org/10.2147/IDR.S234353>
10. *Taati Moghadam M., Khoshbayan A., Chegini Z., Farahani I., Shariati A. // Drug. Des. Devel. Ther. 2020. V. 14. P. 1867–1883.*  
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S251171>
11. *Huon J.F., Montassier E., Leroy A.G., Grégoire M., Vibet M.A., Caillon J. et al. // mSystems. 2020. V. 5. № 6. e00542-20.*  
<https://doi.org/10.1128/mSystems.00542-20>
12. *Shivaram K.B., Bhatt P., Verma M.S., Clase K., Simsek H. // Science of the Total Environment. 2023. V. 901. P. 165859.*  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165859>
13. *Wang Z., Zhao X. // J. Appl. Microbiol. 2022. V. 133. № 4. P. 2137–2147.*  
<https://doi.org/10.1111/jam.15555>
14. *Tang A.-Q., Yuan L., Chen C.-W., Zhang Y.-S., Yang Z.-Q. // Lwt. 2023. V. 182. P. 114774.*  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114774>
15. *Carmody C.M., Goddard J.M., Nugen S.R. // Bioconjugate Chemistry. 2021. V. 32. № 3. P. 466–481.*  
<https://doi.org/10.9931021/acs.bioconjchem.1c00018>
16. *Li T., Lu X.M., Zhang M.R., Hu K., Li Z. // Bioactive Materials. 2022. V. 11. P. 268–282.*  
<https://doi.org/10.1016/j.1130bioactmat.2021.09.029>
17. *Stone E., Campbell K., Grant I., McAulie O. // Viruses. 2019. V. 11. P. 567.*  
<https://doi.org/10.3390/v11060567>
18. *Alaoui Mdarhri H., Benmessaoud R., Yacoubi H., Seffar L., Guennouni Assimi H., Hamam M. et al. // Antibiotics (Basel). 2022. V. 11. № 12. P. 1826.*  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics11121826>
19. *Soothill J.S. // Burns. 1994. V. 20. № 3. P. 209–211.*  
[https://doi.org/10.1016/0305-4179\(94\)90184-8](https://doi.org/10.1016/0305-4179(94)90184-8)
20. *Mendes J.J., Leandro C., Corte-Real S., Barbosa R., Cavaco-Silva P., Melo-Cristino J. et al. // Wound Repair Regen. 2013. V. 21. P. 595–603.*  
<https://doi.org/10.1111/wrr.12056>
21. *dos Santos Ferreira N., Hayashi Sant' Anna F., Massena Reis V., Ambrosini A., Gazolla Volpiano C., Rothballer M. et al. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2020. V. 70. № 12. P. 6203–6212.*  
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004517>



22. Guliy O.I., Zaitsev B.D., Borodina I.A., Shikhabudinov A.P., Teplykh A.A. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2017. V. 53. № 4. P. 464–469.  
<https://doi.org/10.1134/S0003683817040068>
23. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual.* 2 Ed. N.Y.: Cold Spring. Maven Lab. Press, 1989. 1626 p.
24. Hoogenboom H.R., Griffiths A.D., Johnson K.S., Chiswell D.J., Hundson P., Winter G. // *Nucleic Acids Res.* 1991. V. 19. P. 4133–4137.  
<https://doi.org/10.1093/nar/19.15.4133>.
25. Click E.M., Webster R.E. // *J. Bacteriol.* 1997. V. 179. №. 20. P. 6464–6471.  
<https://doi.org/10.1128/jb.179.20.6464-6471.1997>
26. Click E.M., Webster R.E. // *J. Bacteriol.* 1998. V. 180. №. 7. P. 1723–1728.  
<https://doi.org/10.1128/JB.180.7.1723-1728.1998>
27. Riechmann L., Holliger P. // *Cell.* 1997. V. 90. № 2. P. 351–360.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80342-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80342-6).
28. Deng L.W., Malik P., Perham R.N. // *Virology.* 1999. V. 253. P. 271–277.  
<https://doi.org/10.1006/viro.1998.9509>
29. Branston S.D., Stanley E.C., Ward J.M., Keshavarz-Moore E. // *Biotechnol. Bioproc. Eng.* 2013. V. 18. P. 560–566.  
<https://doi.org/10.1007/s12257-012-0776-9>
30. Moghimian P., Srot V., Pichon B.P., Facey S.J., van Aken P.A. // *JBNB.* 2016. V. 7. № 2. P. 72–77.  
<https://doi.org/10.4236/jbnb.2016.72009>
31. Salivar W.O., Tzagoloff H., Pratt D. // *Virology.* 1964. V. 24. P. 359–371.  
[https://doi.org/10.1016/0042-6822\(64\)90173-4](https://doi.org/10.1016/0042-6822(64)90173-4)
32. Seo H., Cho S., Vo T.T.B., Lee A., Cho S., Kang S. et al. // *Microbiol Spectr.* 2023. V. 11. e01446-23.  
<https://doi.org/10.1128/spectrum.01446-23>
33. Smith G.P., Scott J.K. // *Methods Enzymol.* 1993. V. 217. P. 228–257.  
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(93\)17065-d](https://doi.org/10.1016/0076-6879(93)17065-d)
34. Zaitsev B.D., Borodina I.A., Teplykh A.A. // *Ultrasonics.* 2022. V. 126. P. 106814.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultras.2022.106814>
35. Rakhuba, D.V., Kolomiets, E.I., Dey, E.S., Novik G.I. // *Pol J Microbiol.* 2010. V. 59. № 3. P. 145–155.
36. Fraser J.S., Maxwell K.L., Davidson A.R. // *J. Mol. Biol.* 2006. V. 359. P. 496–507.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.03.043>
37. Fraser J.S., Maxwell K.L., Davidson A.R. // *Curr. Opin. Microbiol.* 2007. V. 10. P. 382–387.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2007.05.018>
38. Lukose J., Barik A.K., Mithun N., Sanoop Pavithran M., George S.D., Murukeshan V.M., Chidangil S. // *Biophys Rev.* 2023. V. 15. № 2. P. 199–221.  
<https://doi.org/10.1007/s12551-023-01059-4>
39. Defilippis V.R., Villarreal L.P. // *Introduction to the Evolutionary Ecology of Viruses. Viral Ecology.* 2000. P. 125–208.  
<https://doi.org/10.1016/B978-012362675-2/50005-7>
40. Strathdee S.A., Hatfull G.F., Mutalik V.K., Schooley R.T. // *Cell.* 2023. V. 186. № 1. P. 17–31.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.017>
41. Grabowski Ł., Łepek K., Stasiłojć M., Kosznik-Kwaśnicka K., Zdrojewska K., Maciąg-Dorszyńska M. et al. // *Microbiol Res.* 2021. V. 248. P. 126746.  
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126746>.
42. Suh G.A., Patel R. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2023. V. 29. № 6. P. 710–713.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2023.02.006>.
43. Daubie V., Chalhoub H., Blasdel B., Dahma H., Merabishvili M., Glonti T. et al. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022. V. 12. P. 1000721.  
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1000721>
44. Patpatia S., Schaedig E., Dirks A., Paasonen L., Skurnik M., Kiljunen S. // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022. V. 12. P. 1032052.  
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1032052>
45. Perlemoine P., Marcoux P.R., Picard E., Hadji E., Zelsmann M., Mugnier G. et al. // *PLoS ONE* 2021. V. 16. № 3. e0248917.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248917>

## Determination of Bacterial Sensitivity to a Bacteriophage by Using a Compact Acoustic Analyzer

O. I. Guliy<sup>a,\*</sup>, B. D. Zaitsev<sup>b</sup>, O. A. Karavaeva<sup>a</sup>, and I. A. Borodina<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms — Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov, 410049 Russia*

<sup>b</sup>*Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences, Saratov Branch, Saratov, 410019 Russia*

\*e-mail: guliy\_olga@mail.ru

The work demonstrates for the first time the potential of a compact acoustic sensor system for assessing the impact of bacteriophages on microbial cells and assessing their bacteriophage sensitivity. It was found that using the developed system one can evaluate the activity of bacteriophages against microbial cells within 5 min without taking into account the time of cultivating microbial cells for analysis. The results obtained are promising for the further development of the acoustic sensory system in the phage therapy.

**Keywords:** bacteriophage, microbial cell, phage therapy, acoustic compact analyzer