

УДК 579.6

АКУСТИЧЕСКАЯ СЕНСОРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

© 2020 г. О. И. Гулий^{1,2,*}, Б. Д. Зайцев³, О. А. Каравеева¹,
А. К. М. Алсовэйди⁴, О. С. Ларионова², И. А. Бородина³

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049 Россия

²Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, 410012 Россия

³Институт Радиотехники и Электроники им В.А. Котельникова РАН, Саратовский филиал,
Саратов, 410019 Россия

⁴Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
Саратов, 410005 Россия

*e-mail: guliy_olga@mail.ru

Поступила в редакцию 10.03.2020 г.

После доработки 13.04.2020 г.

Принята к публикации 22.04.2020 г.

Разработан способ быстрого определения бактерий *Escherichia coli* в водопроводной воде с помощью акустического датчика. Способ основан на регистрации изменений глубины и частоты пиков резонансного поглощения на выходном сигнале датчика до и после инфекции микробных клеток специфичным бактериофагом. Проведены контрольные эксперименты, исключающие неспецифичное взаимодействие микробных клеток с бактериофагами. Предел определения бактерий составил $\sim 10^3$ кл./мл при времени анализа 5 мин. Отличительная особенность используемого датчика – наличие съемной жидкостной ячейки, что обеспечивало возможность ее многократного использования и облегчало процесс очистки ячейки от образца.

Ключевые слова: микробные клетки, бактериофаги, определение и идентификация бактерий, щелевая акустическая мода, акустическая линия задержки, частотная зависимость полных потерь

DOI: 10.31857/S0555109920050074

Одной из важных задач своевременного предотвращения пищевых отравлений и массовых заболеваний является исследование микробного загрязнения воды. В биологическом (эпидемиологическом) отношении безопасностью питьевой воды определяется полным отсутствием в ней болезнетворных бактерий, вирусов, простейших микроорганизмов, яиц гельминтов, вызывающих у человека инфекционные заболевания. Пригодная для питья вода должна соответствовать определенным физическим, химическим и микробиологическим стандартам. К наиболее распространенной относится оценка безопасности воды по косвенным бактериологическим показателям: степень общего бактериального загрязнения или общее микробное число, содержание кишечной палочки (*Escherichia coli*). Общее микробное число представляет собой количество клеток микроорганизмов в 1 мл воды, способных образовывать видимые колонии после посева на плотные питательные среды. По существующим нормам в 1 мл питьевой воды не должно содержаться более 100 микробов (сапрофитных аэробов и факультативных анаэробов).

Это косвенный показатель поступления в систему водоснабжения бактериального загрязнения. Содержание в воде кишечной палочки определяется коли-индексом или коли-титром. Коли-индекс – это количество клеток *E. coli*, содержащихся в 1 л воды. Коли-титр – это наименьший объем воды, в котором удается обнаружить 1 кишечную палочку. Наличие кишечной палочки является показателем фекального загрязнения воды. К наиболее надежным методам определения бактерий в воде относят метод прямого подсчета клеток и метод мембранной фильтрации. Методом прямого подсчета определяют количество микроорганизмов, вырастающих в виде колоний, что соответствует степени загрязнения воды и характеризует ее состояние. Общее количество микробов следует рассматривать как существенный косвенный показатель санитарного состояния воды. Метод мембранной фильтрации основан на фильтрации определенного объема воды через мембранные фильтры, выращивании собранных клеток на дифференциально-диагностической среде с последующей иден-

тификацией колоний по культуральным и биохимическим признакам. При использовании стандартных методов для получения результата о наличии/отсутствии обсемененности воды необходимо не менее 24 ч, поэтому актуально развитие быстрых методов определения микробных клеток.

Использование биосенсорных систем для определения бактерий позволяет решить эту задачу. Следует отметить, что большинство сенсорных устройств не адаптировано к проведению измерений в условиях высокой проводимости среды измерения (выше 20 мкСм/см). Так, в работах [1–4] дана краткая характеристика биосенсорных устройств для определения микробных клеток в воде и отмечается необходимость адаптации биосенсоров для определения бактерий в воде, используемой в промышленности, муниципальных и коммерческих учреждениях, удельная электрическая проводимость которой высокая за счет растворенных в ней ионных соединений. В работе [5] описан способ обнаружения клеток *E. coli* (в течение 8 мин) в питьевой воде с помощью биосенсора на основе флуоресценции химерного белка (**GFP-cols4**). Флуоресценция обеспечивается его субъединицей GFP, которая ковалентно связывается с бактериоцином, специфичным к *E. coli*, при линейном диапазоне определения клеток от 20 до 10^3 колониальнообразующих единиц (КОЕ). К сожалению, в работе не приводятся данные о проводимости исследуемого образца. В работе [6] описывается микрожидкостное устройство, которое обеспечивало определение микробных клеток непосредственно в физиологических образцах с высокой проводимостью и вязкостью (коровье молоко, кровь). Однако в работе не приводятся сведения о способах очистки устройства от измерительного образца, содержащего бактерии. Среди электрофизических методов анализа бактерий можно выделить акустические методы, применение которых до недавнего времени носило, в основном, описательный характер. Акустические датчики измеряют изменения в характеристиках акустических волн (скорость и затухание) при их распространении в пьезоэлектрическом кристалле, контактирующем с исследуемой средой. В предыдущих работах [7–9] было показано, что в результате инфекции микробных клеток специфичными бактериофагами происходит изменение измеряемых электрофизических параметров суспензии (проводимость, вязкость), которые фиксируются акустическими датчиками на основе резонатора с поперечным электрическим полем и двухканальной линии задержки. При развитии методов определения бактерий важно учитывать возможность проведения анализа в условиях повышенной проводимости среды измерения. Электрическая проводимость увеличивается с повышением содержания примесей (ионов калия, натрия, хлора, карбонатов, фосфатов и органических кислот, а

также белков и других органических соединений). Высокая проводимость среды значительно затрудняет возможность индикации бактерий, поэтому экспресс-анализ микробных клеток в жидкостях с высокой проводимостью является весьма актуальным направлением исследований.

Цель работы – экспресс-анализ бактерий при их инфекции бактериофагами в водопроводной воде с помощью акустического датчика.

МЕТОДИКА

Микробные клетки и условия их культивирования. В работе использовали микроорганизмы *Escherichia coli* XL-1 (IBPPM 632) и *Azospirillum lipoferum* Sp59b (IBPPM 173), полученные из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (Россия) (<http://collection.ibppm.ru/>).

Для получения бульонных культур микроорганизмов использовали жидкую питательную среду LB следующего состава (г/л): NaCl – 5; дрожжевой экстракт – 10 и пептон – 5. Культивирование проводили при интенсивном перемешивании на шейкере (160 об./мин) в течение 18 ч при $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Перед проведением измерений осуществляли трехкратную отмывку клеток используемых штаммов от культуральной среды центрифугированием (3354 г, 5 мин). Суспензию клеток доводили буферным раствором до оптической плотности $D_{540} = 0.40\text{--}0.42$ и использовали для анализа. Концентрацию клеток определяли на спектрофотометре “Specol-221” (“Carl Zeiss”, Германия). В работе использовали стандартный 0.1 М ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{KH}_2\text{PO}_4$) фосфатный буфер, pH 7.0, (проводимость 5, 10, 20, 30 и 50 мкСм/см), а также воду с проводимостью 990 мкСм/см. Проводимость растворов контролировали с помощью кондуктометра HI 8733 (“HANNA”, США).

Определение концентрации фаговых частиц. Количество фаговых частиц определяли в Центре коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии “Симбиоз” ИБФРМ РАН на приборе Specord BS-250 (“Analytik Jena”, Германия). Для расчета количества фаговых частиц использовали уравнение: $(A_{269} - A_{320}) \times 5 \times 10^{14}/15$, где A_{320} – оптическая плотность суспензии при 320 нм и A_{269} – при 269 нм [10].

Описание датчика и проведение анализа. Основным элементом датчика для определения микробных клеток являлась линия задержки, изготовленная из пластины Y–X ниобата лития толщиной 200 мкм [11]. На одной из сторон пластины были нанесены встречно-штыревые преобразователи для возбуждения и приема акустической волны с поперечно-горизонтальной поляризацией. На противоположной стороне пластины с некоторым зазором помещался жидкостный кон-

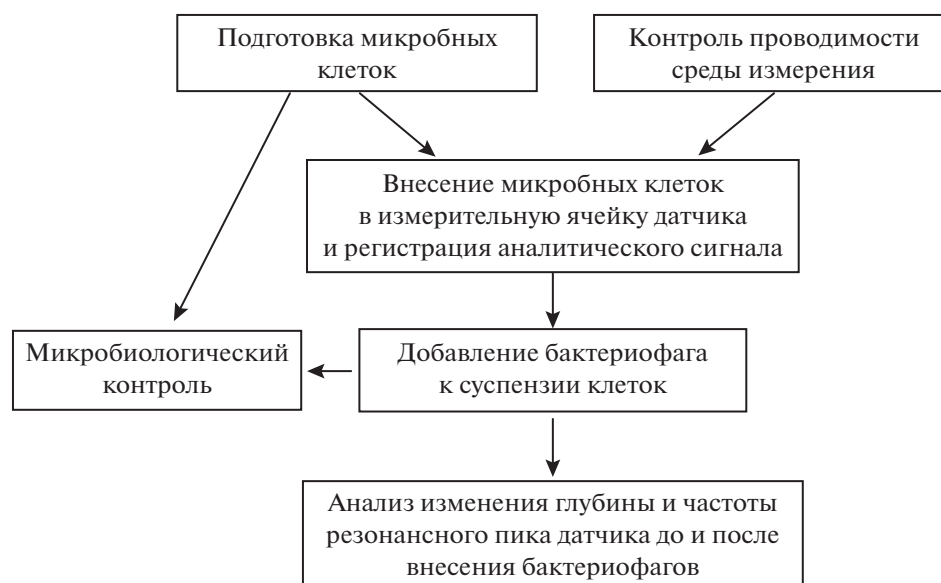


Рис. 1. Общая схема эксперимента.

тейнер, основание которого было выполнено из пластины ниобата лития $Z-X + 30^\circ$, среза толщиной 500 мкм. Зазор между дном контейнера и поверхностью пьезопластины обеспечивался с помощью полосок алюминиевой фольги толщиной 16 мкм. Скорость акустической волны, распространяющейся в такой структуре, изменяется при изменении проводимости жидкости, находящейся в контейнере. Изменение скорости волны приводит к изменению выходных параметров датчика (глубины и частоты пиков резонансного поглощения на частотной зависимости полных потерь акустической линии задержки) [12].

При помощи разработанного датчика экспериментально исследовалось специфическое и неспецифическое взаимодействие бактериальных клеток и бактериофагов непосредственно в жидкой фазе. Для этого датчик подключался к измерителю S-параметров E5071C (“Agilent”, США) в режиме измерения полных потерь выходного сигнала устройства. Первоначально измерялись характеристики датчика с контейнером без внесения жидкости, при этом было показано наличие ярко выраженных резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь, связанных с возбуждением щелевой моды в исследуемой структуре [13]. Затем жидкостный контейнер заполнялся буферным раствором с заданной проводимостью (5–50 мкСм/см) или водопроводной водой (проводимость 990 мкСм/см) и измерялись частотные зависимости полных потерь датчика.

Далее жидкостный контейнер очищали, просушивали, добавляли в него суспензию микробных клеток в буфере и измеряли параметры датчика. Измерения проводились для концентрации клеток 10^6 , 10^4 и 10^3 кл./мл. Затем в контейнер до-

бавляли специфичный к клеткам бактериофаг и вновь проводили измерение частотной зависимости полных потерь датчика. Во всех измерениях использовали одинаковое количество бактериофага, выбранное на основании ранее проведенных экспериментов [7]. Аналитическим сигналом служило изменение глубины и частоты резонансных пиков при специфичном и неспецифичном взаимодействии бактериальных клеток с бактериофагом. Схема экспериментов представлена на рис. 1.

Все эксперименты проводились не менее пяти раз. Относительная погрешность результатов измерений составляла $\pm 2\%$, т.е. при проведении нескольких экспериментов с одним и тем же взаимодействием суспензии клеток с бактериофагом значение глубины резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь имели разброс значений на любой частоте в пределах $\pm 2\%$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно принятым стандартам для оценки микробиологического качества воды проводят мониторинг бактерий группы кишечной палочки, поэтому для исследований использовали клетки представителя группы кишечной палочки *E. coli*. В качестве тестовой системы использовали клетки *E. coli* штамма XL-1 и специфичный им бактериофаг M13K07. Выбор такой модельной системы обусловлен тем, что бактериофаг M13K07 и процесс инфицирования клеток штамма XL-1 хорошо описан [14, 15]. Проведенные ранее исследования показали возможность регистрации инфекции клеток данным бактериофагом с помощью электроакустического датчика [7, 8].

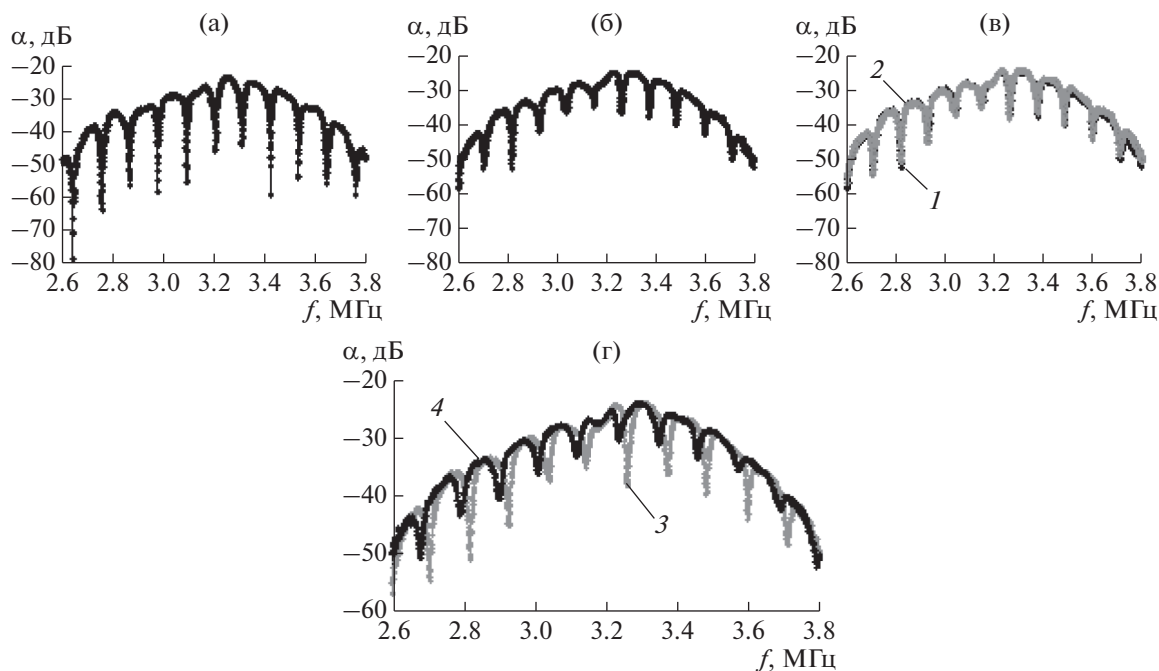


Рис. 2. Частотные зависимости полных потерь (α) датчика: пустой контейнер (а), контейнер с буферным раствором с проводимостью 50 мкСм/см (б), контейнер с буферным раствором до (1) и после (2) добавления микробных клеток *E. coli* XL-1 (в), контейнер с буферным раствором и микробными клетками до (3) и после (4) добавления специфичного бактериофага (г).

Измерения проводили с помощью акустического датчика на основе щелевой моды в линии задержки с поперечно-горизонтальной волной нулевого порядка. Как уже отмечалось, при измерении характеристик датчика с пустым контейнером были обнаружены ярко выраженные пики резонансного поглощения на частотной зависимости полных потерь (α) датчика (рис. 2а). Появление этих пиков связано с распространением и пере-отражением щелевой акустической волны в структуре из двух пьезоэлектрических пластин, разделенных воздушным зазором [11–13]. Добавление буферного раствора (с проводимостью 5–50 мкСм/см) в контейнер приводило к значительному уменьшению глубины резонансных пиков. Это свидетельствовало о том, что данное устройство чувствительно к присутствию жидкости. На рис. 2б в качестве примера представлены частотные зависимости полных потерь (α) датчика при добавлении в контейнер буферного раствора с проводимостью 50 мкСм/см. Дальнейшее добавление к нему микробных клеток практически не влияло на характеристики датчика. В процессе исследований концентрация микробных клеток составляла 10^6 , 10^4 и 10^3 кл./мл. На рис. 2в в качестве примера приведены частотные зависимости полных потерь датчика при добавлении клеток *E. coli* (10^6 кл./мл) (кривая 2) к буферному раствору с проводимостью 50 мкСм/см (кривая 1).

При последующем добавлении в контейнер бактериофага, специфичного для клеток *E. coli* XL-1, наблюдалось значительное уменьшение глубины резонансных пиков и сдвиг их частоты по сравнению с контейнером, загруженным только буфером с клетками. На рис. 2г в качестве примера представлены частотные зависимости полных потерь датчика, в случае заполнения контейнера буферным раствором проводимостью 50 мкСм/см с клетками *E. coli* XL-1 (концентрация – 10^6 кл./мл) до (кривая 3) и после (кривая 4) добавления специфичного бактериофага М13К07.

Полученные результаты свидетельствовали о чувствительности используемого датчика к регистрации инфекции микробных клеток специфичным бактериофагом. Причина регистрируемых изменений заключалась в следующем. При добавлении к суспензии клеток специфичного им бактериофага ее электрическая проводимость возрастала вследствие адсорбции фага на поверхности бактерий и повреждения клеточной мембраны. Нарушение целостности бактериальных мембран сопровождалось частичным выходом в суспензию компонентов клеточной цитоплазмы, что приводило к увеличению электрической проводимости суспензии. Это вызывало изменение скорости акустической волны в датчике, состоящем из двух разделенных зазором пьезоэлектрических пластин ниобата лития, одна из которых

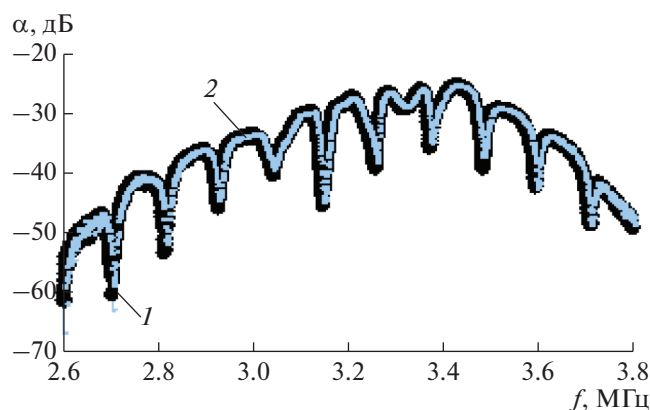


Рис. 3. Частотные зависимости полных потерь (α) датчика с контейнером, залитым буферным раствором с проводимостью 50 мкСм/см и клетками *A. lipoferum* Sp59b до (1) и после (2) добавления неспецифического бактериофага M13K07.

контактирует с исследуемой суспензией. Изменение скорости волны приводило к изменению выходных параметров датчика (глубина и частота пиков резонансного поглощения на частотной зависимости полных потерь датчика).

Для контроля полученных результатов проводили эксперименты, в которых применяли микробные клетки других штаммов и бактериофаг M13K07. В качестве балластных культур использовали клетки *A. lipoferum* Sp59b. Выбор клеток *A. lipoferum* обусловлен тем, что они имели близкие размеры с клетками кишечной палочки, но отличались таксономическим положением. Измерения проводились для тех же буферных растворов, что и в случае специфического взаимодействия (5–50 мкСм/см) при количестве клеток в контейнере 10^6 , 10^4 и 10^3 кл./мл. Полученные результаты показали (рис. 3), что добавление к суспензии клеток *A. lipoferum* Sp59b бактериофага M13K07 не приводило к изменениям глубины и частоты резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь датчика при любой проводимости буфера. Максимальное изменение глубины пика вблизи частоты 2.8 МГц составило всего – 0.5 дБ для буферного раствора проводимостью 50 мкСм/см.

Таким образом, датчик позволял разграничивать инфицирование бактериальных клеток специфическими бактериофагами, от контрольных экспериментов, когда такое инфицирование не происходило.

Одним из основных вопросов при разработке датчиков для определения микробных клеток является проведение исследований в реальных (или приближенных к реальным условиям) образцах. Анализ микробных клеток в воде, используемой в промышленности, муниципальных и коммерческих учреждениях и больницах, представляет су-

щественную проблему, поскольку удельная электрическая проводимость воды в этих случаях очень высока за счет растворенных в ней ионных соединений. Для оценки чувствительности датчика при работе с реальными образцами жидкости были проведены исследования специфического взаимодействия микробных клеток *E. coli* XL-1 с фагом M13K07 и неспецифического взаимодействия микробных *A. brasilense* Sp7 с этим же фагом в водопроводной воде с проводимостью 990 мкСм/см. Методика проведения данного цикла экспериментов была аналогична описанной ранее. На рис. 4 (а, в) представлены частотные зависимости полных потерь датчика с контейнером, наполненным водопроводной водой с проводимостью 990 мкСм/см и клетками *E. coli* XL-1 при их специфическом взаимодействии с бактериофагом M13K07. На рис. 4 (б, г) представлены эти же частотные зависимости при неспецифическом взаимодействии клеток *A. brasilense* Sp 7 и бактериофага M13K07. Использовались суспензии клеток с концентрацией клеток 10^3 кл./мл (рис. 4а, 4б) и 10^6 кл./мл (рис. 4в, 4г). Кривые 1 соответствуют водной суспензии клеток без бактериофагов, кривые 2 – водной суспензии клеток с добавлением бактериофагов. Видно, что даже при такой высокой проводимости воды в случае специфического взаимодействия микробных клеток с бактериофагом наблюдается изменение глубины и частоты резонансных пиков на частотной зависимости полных потерь датчика. Максимальное изменение глубины резонансного пика на частоте 2.8 МГц составляло 2.9 дБ.

Очевидно, что регистрируемое изменение аналитического сигнала суспензии клеток при их инфицировании бактериофагом связано с наличием жизнеспособных бактерий. В табл. 1 в качестве примера представлены данные высева на среды *E. coli* XL-1 (начальная концентрация клеток 10^3 кл./мл) после воздействия используемого раствора различной проводимости и результаты изменения глубины резонансного пика вблизи частоты 2.8 МГц после специфического взаимодействия клеток и бактериофага M13K07. Аналогичные результаты получены для всех резонансных пиков и используемых концентраций клеток. Установлено, что проводимость среды не оказывала влияния на жизнеспособность бактерий.

Устойчивость микробных клеток к воздействию высокой проводимости среды может быть обусловлена тем, что бактерии выделяют внутренние ионы, а также различные метаболиты [16]. Клетки в условиях повышенной проводимости среды активируют открытие механико-чувствительных каналов для восстановления естественного тургора и проводят выброс осмолитов без лизиса клеток [17]. Таким образом, в этих условиях клетки остаются жизнеспособными. Однако

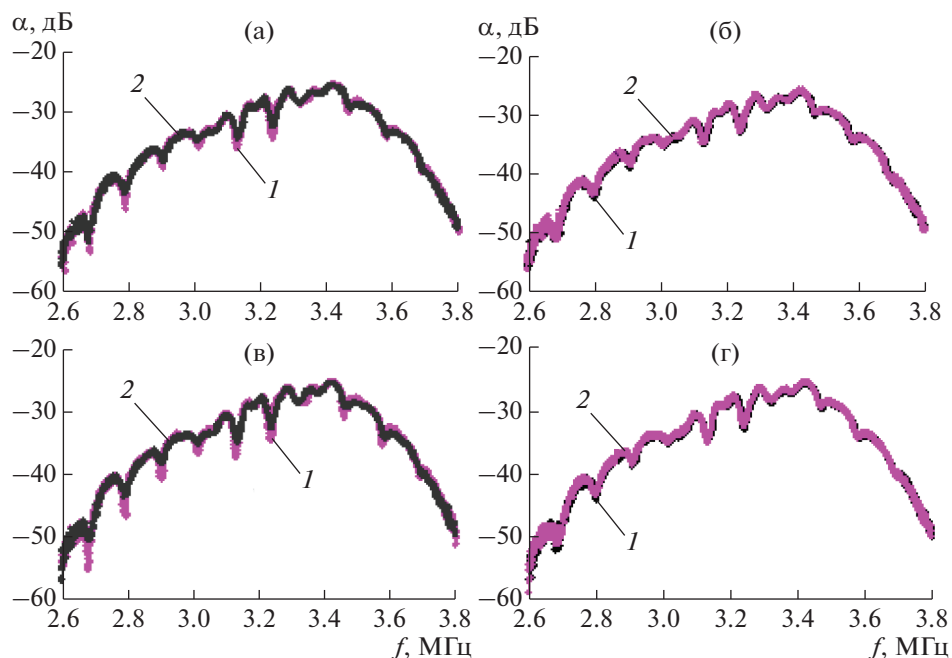


Рис. 4. Частотные зависимости полных потерь (α) датчика с контейнером, наполненным водопроводной водой проводимостью 990 мкСм/см при специфичном взаимодействии *E. coli* XL-1 и бактериофага M13K07 (а, в) и при неспецифичном взаимодействии *A. brasilense* Sp 7 и бактериофага M13K07 (б, г). Концентрация клеток – 10^3 (а, б) и 10^6 (в, г) кл./мл. 1 – вода с клетками без бактериофага, 2 – вода с клетками после добавления бактериофага.

на практике исследуемый образец может содержать смесь живых и мертвых клеток и способность различать такие клетки имеет решающее значение для практического применения. Это становится возможным при использовании бактериофагов в качестве селективного агента. При добавлении в исследуемую суспензию клеток специфичных бактериофагов можно не только определить микробные клетки, но и сделать вывод об их жизнеспособности, поскольку бактериофаги не инфицируют нежизнеспособные клетки.

Разработанный датчик на основе щелевой моды, представляет собой новую сенсорную платформу для быстрой регистрации взаимодействия микробных клеток с бактериофагами с целью обнаружения бактерий в воде. Как уже отмечалось, датчик основан на создании щелевой моды между двумя пьезоэлектрическими пластинами ниобата лития с зазором между ними. Верхняя пластина служит дном жидкостного контейнера, который заполнялся исследуемой суспензией клеток. После добавления специфичного бактериофага проводимость суспензии увеличивалась и, соответственно, изменялась скорость акустической волны, распространяющейся в такой структуре. Изменение скорости волны приводило к изменению выходных параметров датчика. По изменениям в выходных параметрах датчика для суспензии клеток до и после биологического взаимодействия можно было сделать заключение о наличии (или

отсутствии) исследуемых бактерий в анализируемой суспензии. Несомненное достоинство описанной методики заключается в возможности проведения анализа жидкости без дополнительной иммобилизации компонентов сенсорной системы. Конструкция датчика, имеющего зазор между пластинами, позволяет снимать жидкостный контейнер и проводить его очистку от исследуемого образца, что являлось важным условием при работе с микроорганизмами. Наличие съемной жидкостной ячейки позволяло использовать ее многократно.

Таблица 1. Результаты микробиологического анализа клеток *E. coli* XL-1 (начальная концентрация клеток 10^3 кл./мл) после воздействия раствора различной проводимости и изменение глубины резонансного пика вблизи частоты 2.8 МГц вследствие специфичного взаимодействия клеток с бактериофагом M13K07

Проводимость буфера, мкСм/см	КОЕ/мл	Изменение глубины резонансного пика датчика, дБ
5	1.8×10^3	-8.9
10	2.2×10^3	-5.4
20	2.1×10^3	-5.8
30	1.7×10^3	-5.1
50	1.4×10^3	-4.9
990	1.5×10^3	-2.9

Таким образом, проведенные эксперименты показали возможность определения бактериальных клеток в воде с высоким значением проводимости (вплоть до 990 мкСм/см) путем регистрации специфического взаимодействия бактериальной клетки с бактериофагом с помощью датчика на основе щелевой моды в акустической линии задержки с поперечно-горизонтальной волной нулевого порядка. Установлен предел детекции клеток, который оказался равным 10^3 кл./мл при времени анализа 5 мин. Предварительный санитарный анализ воды с помощью биосенсорных устройств является необходимым дополнением к используемым микробиологическим исследованиям. Разработанный метод позволяет проводить скрининг большого количества образцов воды в краткие сроки, выявлять источники микробиологической опасности и оценивать риски заболевания. Полученные результаты могут служить основой для создания соответствующей сенсорной системы определения бактерий в воде.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (проекты №№ 19-07-00300 и 19-07-00304).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chen S., Cheng Y.F. // Int. J. Biosen. Bioelectron. 2017. V. 2. № 6. P. 197–199.
2. Ejeiana F., Etedalia P., Mansouri-Tehrani H.-A., Soozanipoura A., Low Ze-Xian, Mohsen A., Asghar T.-K., Razmjou A. // Biosens. Bioelectron. 2018. V. 118. № 1. P. 66–79.
3. Tan L. and Schirmer K. // Curre. Opin. Biotechnol. 2017. V. 45. № 1. P. 59–68.
4. Raich J. Review of Sensors to Monitor Water Quality. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2013. 33 p. <https://doi.org/10.2788/35499>
5. Gutiérrez-del-Río I., Marín L., Fernández J., Álvarez San Millán M., Ferrero F.J., Villedor M., Campo J.C., Cobián N., Méndez I., Lombó F. // PLoS One. 2018. V. 13. № 1. e0184277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184277>
6. Cai D., Yi Q., Shen C., Lan Y., Urban G., Du W. // Bio-microfluidics. 2018. V. 12. № 1. 014109. <https://doi.org/10.1063/1.5016413>
7. Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Кузнецова И.Е., Шихабудинов А.М., Дыкман Л.А., Староверов С.А., Каравалева О.А., Павлий С.А., Игнатов О.В. // Биофизика. 2015. Т. 60. № 4. С. 722–728.
8. Гулий О.И., Зайцев Б.Д., Бородина И.А., Шихабудинов А.М., Теплых А.А. // Прикл. биохимия и микробиология. 2017. Т. 53. № 4. С. 413–419.
9. Borodina I.A., Zaitsev B.D., Guliy O., Teplykh A.A., Shikhabudinov A.M. // Ultrasonics. 2017. V. 81. P. 174–177.
10. Smith G.P., Scott J.K. // Methods in Enzymol. 1993. V. 217. P. 228–257.
11. Borodina I.A., Zaitsev B.D., Burygin G.L., Guliy O.I. // Sensors and Actuators B. 2018. V. 268. P. 217–222.
12. Borodina I.A., Zaitsev B.D., Teplykh A.A. // Ultrasonics. 2018. V. 82. P. 39–43.
13. Borodina I.A., Zaitsev B.D., Kuznetsova I.E., Teplykh A.A. // IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control. 2013. V. 60. P. 2677–2681.
14. Endemann H., Model P. // J. Mol. Biol. 1995. V. 250. № 4. P. 496–506.
15. Deng L.W., Malik P., Perham R.N. // Virology. 1999. V. 253. № 2. P. 271–277.
16. Berrier C., Coulombe A., Szabo I., Zoratti M., Ghazi A. // Eur. J. Biochem. 1992. V. 206. № 2. P. 559–565.
17. Ebrahimi A., Alam M.A. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2016. V. 113. № 26. P. 7059–7064. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606097113>

Acoustic Sensor System for Determining Bacteria in Aquatic Environment

O. I. Guliy^{a, b, *}, B. D. Zaitsev^c, O. A. Karavaeva^a,
A. K. M. Alsowaidi^d, O. S. Larionova^b, and I. A. Borodina^c

^aInstitute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049 Russia

^bSaratov State Agrarian University, Saratov, 410012 Russia

^cKotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics, Russian Academy of Sciences, Saratov Branch, Saratov, 410019 Russia

^dChernyshevsky National Research State University, Saratov, 410005 Russia

*e-mail: guliy_olga@mail.ru

A method for the rapid determination of bacteria using as example *E. coli* cells in tap water by using a slot-mode sensor in the acoustic delay line has been developed. The method is based on recording the changes in the depth and frequency of resonance absorption peaks on the frequency dependence of the insertion loss of the sensor before and after the infection of microbial cells with specific bacteriophages. The control experiments excluding non-specific interaction of microbial cells with bacteriophages were carried out. The detection limit of bacteria turned out to be $\sim 10^3$ cells/mL with an analysis time of 5 min. A distinctive feature of the used sensor is the presence of a removable liquid container, which allows to reuse it and facilitates the process of cleaning the container from the sample.

Keywords: microbial cells, bacteriophages, detection and identification of cells, slot acoustic mode, acoustic delay line, frequency dependence of insertion loss