

Сенсорные системы для оценки восприимчивости бактерий к антибиотикам

*О. И. ГУЛИЙ, О. А. КАРАВАЕВА

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Саратов, Россия

Резюме

Чрезмерное и порой неправильное использование антибиотиков приводит к появлению штаммов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. Устойчивые к антибиотикам патогены являются серьёзной проблемой здравоохранения в повседневной клинической практике, что влечёт за собой тяжёлые экономические последствия, вследствие увеличения затрат на лечение. Своевременное определение чувствительности к противомикробным препаратам при бактериальной инфекции обеспечивает точность назначения препаратов, сокращает время лечения и помогает свести к минимуму распространение инфекций, устойчивых к антибиотикам. Основная проблема при анализе антибиотикочувствительности бактерий заключается в том, что не существует достаточно быстрых диагностических тестов, которые позволили бы правильно назначить антибиотики на месте оказания медицинской помощи. С помощью традиционных методов для определения чувствительности бактерий к антибиотикам требуется минимум 24 ч. Поэтому актуальным является развитие экспресс-методов определения антибактериальной устойчивости, особенно, с помощью биосенсорных систем. В работе проведён краткий анализ проблематики антибиотикочувствительности бактерий в мире, и представлены основные механизмы её развития, а также описана перспективность сенсорных методов для оценки антибиотикорезистентности бактерий.

Ключевые слова: микроорганизмы; антибиотикочувствительность; сенсорные системы

Для цитирования: Гулий О. И., Караваева О. А. Сенсорные системы для оценки восприимчивости бактерий к антибиотикам. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025; 70 (1–2): 76–87. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-1-2-76-87>. EDN: PRHJIX.

Sensor Systems for Assessing Bacterial Susceptibility to Antibiotics

*OLGA I. GULIY, OLGA A. KARAVAEVA

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, Russia

Abstract

Excessive and sometimes inappropriate use of antibiotics leads to the emergence of multidrug-resistant (MDR) strains. Antibiotic-resistant pathogens are a major public health problem in routine clinical practice and have severe economic consequences due to increased treatment costs. Timely testing of antimicrobial susceptibility for bacterial infections ensures accurate prescribing, reduces treatment time, and helps minimize the spread of antibiotic-resistant infections. The main problem with antibiotic susceptibility testing is that there are not enough fast diagnostic tests to allow appropriate antibiotic prescribing at the point of care. Using traditional methods, determining the sensitivity of bacteria to antibiotics requires a minimum of 24 hours. Therefore, the development of express methods for determining antibacterial resistance, especially using biosensor systems, is relevant. The work provides a brief analysis of the problems of antibiotic sensitivity of bacteria in the world and presents the main mechanisms of its development, as well as describes the prospects of sensor methods for assessing the antibiotic resistance of bacteria.

Keywords: microorganisms; antibiotic sensitivity; sensory systems

For citation: Gulyi O. I., Karavaeva O. A. Sensor systems for assessing bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (1–2): 76–87. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-1-2-76-87>. EDN: PRHJIX.

Проблема безопасности применения антибактериальных препаратов стала актуальной, как в национальном, так и в международном мас-

штабе. Несоблюдение ветеринарных требований по применению антибиотиков приводит к их накоплению в объектах окружающей среды, водных

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: guliy_olga@mail.ru



EDN: PRHJIX

*Correspondence to:
E-mail: guliy_olga@mail.ru



ресурсах, продуктах животного происхождения, что негативно сказывается не только на экологии, но и на здоровье людей. Ряд авторов сходятся во мнении, что поступление в организм человека антибиотиков с пищевыми продуктами крайне нежелательно, поскольку они могут оказывать токсическое действие, приводить к возникновению аллергических реакций, дисбактериозов, циркуляции резистентных штаммов, нарушению обмена веществ и другим негативным последствиям. Возникновение резистентности у микроорганизмов является естественным процессом в ответ на широкое применение антимикробных препаратов.

Постоянно развиваются новые механизмы устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, что приводит к появлению бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Развитие МЛУ является одним из ключевых моментов, препятствующих благоприятному течению противомикробного лечения. Хотя традиционные антибиотики до сих пор играют значительную роль в лечении заболеваний, вызванных чувствительными к ним болезнетворными бактериями, они постепенно теряют свою эффективность в отношении бактерий с МЛУ. Традиционные методы обнаружения резистентности бактерий к антибиотикам включают фенотипический тест на чувствительность к антибиотикам, который измеряет бактериальный рост под действием антибиотиков, поэтому характеризуются длительным временем анализа (не менее 24 ч).

Основная проблема при анализе микробной антибиотикочувствительности заключается в том, что не существует достаточно быстрого диагностического теста, который позволил бы правильно назначить антибиотики на месте оказания медицинской помощи. При назначении антибактериальной терапии время, необходимое для полной характеристики инфекционного агента после взятия пробы и подбора правильного антибиотика и дозы, является важным фактором общего успеха лечения пациента. Учёные во всем мире ведут разработки новых методов оценки антибактериальной чувствительности бактерий.

Цель работы — краткий анализ экспресс-методов определения антибактериальной чувствительности/резистентности бактерий.

Проблема микробной антибиотикоустойчивости

С момента появления пенициллина, лечение и профилактика бактериальных инфекций проводятся с помощью антибиотиков, что приводило к снижению смертности на протяжении десятилетий. Однако через несколько лет после открытия пенициллина стало проявляться явление

устойчивости бактерий. В 1972 г. был обнаружен метициллиноустойчивый штамм *Staphylococcus aureus* в Англии, США и других странах [1]. В 2008 г. у *Klebsiella pneumoniae* впервые был идентифицирован ген металло-лактамазы blaNDM-1, обладающий способностью противостоять антибактериальным углеводородам антибиотиков [2]. В 2015 г. описан ген *mcr-1*, отвечающий за лекарственную устойчивость к полимиксинам [2].

Устойчивость к антибиотикам признана одной из наиболее серьёзных глобальных угроз для человечества в XXI веке [3, 4]. Устойчивость бактерий к противомикробным препаратам оказывает непосредственное влияние на здоровье людей и животных, что влечёт за собой тяжёлые экономические последствия из-за дополнительных трат на лечение. Так, например, в 2019 г. исследователи обнаружили, что 1,27 млн человек умерли непосредственно от микробной антибиотикорезистентности (АР), согласно анализу случаев, связанных с АР в 204 странах и регионах по всему миру; и ещё 4,95 млн человек умерли от болезней, связанных с устойчивостью к антибиотикам, большинство из которых (более 10 000 человек) умерло от инфекции, вызванной метициллинорезистентным *S. aureus* [2]. По данным за 2019 г., в США и странах Европы суммарно от заболеваний, возбудителями которых являются резистентные бактерии, умерло около 68 000 человек [5]. Нельзя не отметить увеличение АР в связи с пандемией COVID-19 из-за массового и несогласованного применения противомикробных препаратов у пациентов с COVID-19 и распространённости бактериальных и грибковых вторичных инфекций [6]. Ожидается, что к 2050 г. число смертей от антимикробной резистентности вырастет до 10 млн [7].

Из-за масштабного развития антибиотикорезистентности, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала список самых смертоносных супербактерий, угрожающих здоровью человека, охватывающий 12 семейств, работавших устойчивостью к антибиотикам, среди которых выделены устойчивые к карбапенемам: *Acinetobacter baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa* и Enterobacteriaceae (включая *Klebsiellas* spp., *Escherichia coli*, *Serratia* spp., и *Proteus* spp.), которые устойчивы к ряду антибактериальных препаратов. Распространение мультирезистентных возбудителей бактериальных инфекций сформированы в группу «ESKAPE» (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp.), которые являются одной из наиболее важных угроз современному здравоохранению [8]. Выбор этих патогенов обусловлен тем, что они часто вызывают инвазивные инфекции, и в случае развития антибиотикоустойчи-

вости, возможности лечения таких заболеваний могут быть серьёзно ограничены. Эти патогены способны распространяться во внебольничных условиях или в учреждениях здравоохранения.

К перечню патогенов, подлежащих эпиднадзору в рамках Азиатского и Европейского надзора за устойчивостью к противомикробным препаратам (Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance — CAESAR), с 2016 г. добавлена *Salmonella* spp. [9]. С 2017 г. в этот список ВОЗ включила бактериальный облигатный патоген *Neisseria gonorrhoeae* (возбудитель гонореи), из-за его множественной лекарственной устойчивости к цефалоспорином III поколения (цефтриаксону, цефиксиму) и азитромицину.

ВОЗ объявила противомикробное сопротивление одной из 10 главных глобальных угроз общественному здоровью, стоящих перед человечеством [10], поэтому относит проблему антимикробной резистентности в число наиболее приоритетных, о чем свидетельствует разработка «Глобальной стратегии ВОЗ по сдерживанию резистентности к антимикробным препаратам». В докладе ООН проблема устойчивости к антибиотикам демонстрируется как «серьёзная угроза» для мирового здравоохранения [3, 11, 12].

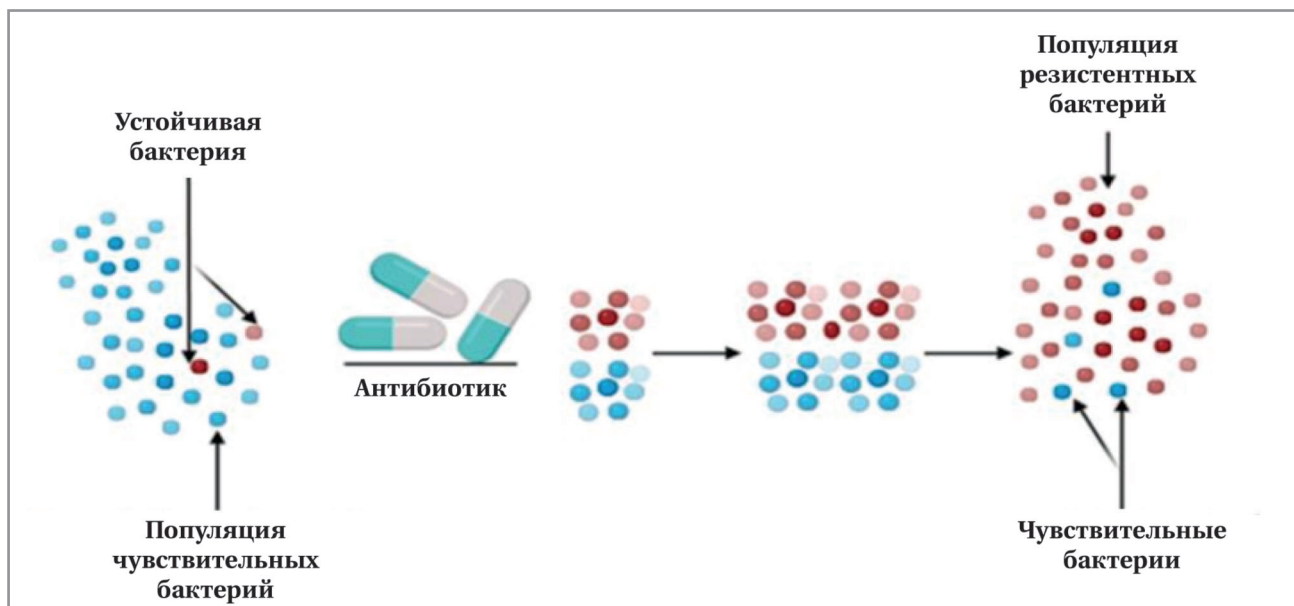
Развитие бактериальной антибиотикорезистентности

В ходе эволюции бактерии выработали ряд защитных механизмов, способных деактивировать антибактериальные агенты, что привело к возникновению микроорганизмов с множественной лекарственной резистентностью [13]. Устойчивость

бактерий к антибиотикам может быть врождённой или приобретённой. Врождённая устойчивость определяется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или её недоступностью, обусловленной исходно низкой проницаемостью клеточной стенки, либо ферментативной инактивацией антимикробного препарата. Подобный тип резистентности является видоспецифичным для микроорганизмов [14].

Приобретённая устойчивость возникает вследствие отбора бактерий при воздействии антибиотика либо с помощью мутаций в хромосомной или плазмидной ДНК, либо посредством горизонтального переноса генов резистентности посредством плазмид или транспозонов [13, 15]. Пример бактериальной мутации, способствующей развитию устойчивости к антибиотикам, показан на рисунке [16].

Очевидно, что бактерии решают эволюционную задачу борьбы с воздействием антибиотиков путём получения ранее существовавших детерминант устойчивости. Мутации, возникающие *de novo*, играют определённую роль в приобретении микроорганизмами устойчивости к лекарственным препаратам, однако основное значение в распространении детерминант антибиотикорезистентности принадлежит горизонтальному переносу генов посредством трансдукции, трансформации и конъюгации [17, 18]. Данный процесс охватывает не только нозокомиальные штаммы, но и микроорганизмы, обитающие в естественных условиях. Например, показано, что субингибирующие концентрации антибиотиков способствуют распространению детерминант антибиотикорезистентности в бактериальной популяции путём



Естественный отбор бактерий, устойчивых к антибиотикам [16].
The natural selection of antibiotic-resistant bacteria [16].

горизонтального переноса генетического материала [19, 20]. Негоспитальные бактерии, устойчивые к антибиотикам, представляют собой потенциальную угрозу, поскольку они могут действовать как резервуар для поддержания и распространения генов устойчивости [21].

Основные механизмы лекарственной устойчивости заключаются в следующем:

- активный отток, препятствующий достижению антибиотиком мишени, т. е., места нарушения функции бактериальной клетки;
- уменьшение проницаемости мембраны бактериальной клетки, происходящее при изменении её состава и функции;
- модификация антибиотика в неактивной форме с участием ферментов, продуцируемых бактериями (они могут изменять антибиотик внутри или снаружи бактериальной клетки, устраняя его антибактериальный эффект);
- изменение мишени антибиотика, снижение его сродства к нему;
- бактериальные мутации, приводящие к уничтожению бактерий, устойчивых к антибиотикам;
- внедрение систем самовосстановления;
- изменения морфологии клеток;
- антибиотикорезистентность бактерий в составе биоплёнок [22].

Обнаружены новые механизмы устойчивости к антибиотикам в бактериях, которые включают переход клеток в состояние покоя, секрецию мишенезащитных белков, а также регуляцию метаболизма и запуск систем самовосстановления, которые составляют систему защиты бактерий от антибиотиков [2].

В связи с постоянным увеличением антибиотикорезистентных штаммов, одним из актуальных направлений является развитие системы мониторинга чувствительности бактерий к антибиотикам. Системы мониторинга антибиотикорезистентности бактерий создаются для контроля и прогнозирования распространения резистентности среди микроорганизмов, появления новых механизмов резистентности в процессе изучения новых препаратов, а также для развития ускоренных методов оценки чувствительности бактерий для оказания своевременной помощи пациентам.

Методы определения антибиотикорезистентности бактерий

Основной целью при определении чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам является прогнозирование их эффективности при лечении. Поэтому определение восприимчивости бактерий к антибиотикам является одной из основных задач при антибиотикотера-

пии. Для оценки воздействия антибиотика на бактерии чаще всего применяют стандартные микробиологические методы (определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) антибиотика в мясопептонном бульоне или на твёрдой питательной среде), основанные на способности препаратов угнетать рост микроорганизмов. МПК определяется как минимальная концентрация антибиотика, которая предотвращает видимый рост микроорганизмов в агаре или тест на чувствительность к разбавлению бульоном [23]. Скорость обычного тестирования восприимчивости бактерий к антибиотикам, по сути, ограничена наблюдением за ростом клеточных колоний, которое может продолжаться в течение нескольких дней. Во время ожидания результатов тестов чувствительности пациенты продолжают получать антибиотики широкого спектра действия, что увеличивает вероятность развития антибиотикорезистентности. Этого можно избежать, если больным целенаправленно назначать индивидуально подобранные антибиотики в начале инфекции, тем самым сокращая использование антибиотиков широкого спектра действия [24].

В связи с увеличением антибиотикоустойчивых штаммов при выборе противомикробных препаратов нельзя полагаться только на данные литературы о чувствительности/устойчивости бактерий. Каждый раз необходимо проводить анализ антибиотикочувствительности бактерий для каждой исследуемой культуры, результаты которых служат ориентиром для выбора и коррекции антибактериальной терапии.

К чувствительным к антибиотикам относятся штаммы микроорганизмов, рост которых подавляется при концентрациях препарата, обнаруживаемых в сыворотке крови больного при использовании обычных доз антибиотиков [25, 26]. Полученные данные для каждой пары бактерии–антибиотик определяются в соответствии с рекомендациями Клинической лаборатории Института стандартов (CLSI) в США и Европейского комитета по Тестированию чувствительности к антибиотикам (EUCAST) в Европе [24]. Эти значения предоставляют врачам необходимую информацию для выбора соответствующего антибактериального препарата.

Стандартные рутинные методы определения антибиотикорезистентности бактерий характеризуются высокой чувствительностью, но требуют длительного времени (не менее 24–48 ч) для подбора оптимального антибиотика при лечении соответствующей инфекции [27]. Поэтому крайне важно развитие методов анализа чувствительности бактерий к антибиотикам, позволяющих получить данные о возможности применения того или иного антибактериального препарата в короткие временные сроки.

Сенсорные методы для определения антибиотикочувствительности бактерий

Для быстрого тестирования антибиотикочувствительности бактерий весьма перспективны биосенсорные методы анализа, поскольку позволяют получить информацию о воздействии антибиотика на бактерии в течение короткого промежутка времени. Основные достижения сенсорных технологий для определения антибиотикорезистентности бактерий представлены в работах [28–32].

Биосенсор — аналитический инструмент, позволяющий анализировать динамику взаимодействия антибиотик–микробные клетки и состоит из чувствительного элемента (биорецептора), связанного с физическим преобразователем [33].

Основные направления по развитию сенсорных систем для определения антибиотикочувствительности бактерий связаны не только с уменьшением времени для получения результата, но и с уменьшением объёма анализируемого образца.

Возможности анализа и мониторинга устойчивости бактерий к антибиотикам продемонстрированы с помощью: электрохимических [34], оптических [35, 36], микрофлюидных [31], наномеханических [32] сенсорных систем и электро-фотонного подхода [37]. В таблице представлены основные сенсорные системы для оценки восприимчивости бактерий к антибиотикам.

Весьма перспективным для оценки воздействия противомикробных препаратов на бактерии оказалось применение кантилеверных датчиков, основанных на регистрации изменений резонансной частоты при увеличении массы бактерий в питательной среде, зависящей от чувствительности к определяемому антибиотику [38], а также с использованием системы считывания антибиотикоустойчивости (резистентности) или антибиотикочувствительности (гибели) бактерий при их прохождении через фокус лазера. Сенсор способен обнаружить активный рост клеток кишечной палочки в течение 1 ч. Метод позволяет обнаружить селективный рост кишечной палочки за 2 ч путём добавления антибиотиков в питательные слои.

Альтернативный способ выявления фенотипической резистентности бактерий к антибиотикам описан в работе [39]. Метод основан на применении системы лазера и детектора для обнаружения одиночных бактериальных клеток в средах при их прохождении через лазерный фокус, результат фиксируется в течение 45 мин. Такое считывание резистентности бактерий к антибиотикам с помощью обнаружения роста (устойчивые) или гибели (чувствительные) бактерий при воздействии антибиотика намного быстрее,

чем стандартные методы. Потенциал данного подхода продемонстрирован путём определения резистентности как на лабораторных, так и на клинических штаммах *E. coli* [39].

В работе [40] показано, что бактериальный метаболизм можно измерить путём наблюдения за колебаниями статического режима кантилевера, покрытого бактериями в водной среде. Обнаружение основано не на классическом статическом отклонении или изменении резонансной частоты, а на изменении флуктуации (фоновый шум) преобразователя от времени. На примере жизнеспособных клеток *S. aureus* показано, что в присутствии антибиотиков (ампициллина и канамицина) из-за гибели бактерий наблюдались отклонения регистрируемых колебаний. Полученные данные по МПК сопоставимы с результатами стандартных методов определения чувствительности к антибиотикам.

Для медленно растущих бактерий (на примере *Bordetella pertussis*) описан метод определения их антибиотикочувствительности с помощью устройства регистрации нанодвижений на основе изменения сигнала датчика до и после добавления антибиотика. Устройство способно охарактеризовать чувствительность *B. pertussis* к антибиотикам в течение нескольких часов [41].

Отдельным направлением развития методов оценки антибактериальной чувствительности являются сенсорные системы на основе микрофлюидики в сочетании с микрокантилевером. Так, например, в работе [42] описан микрокантилевер со встроенным микрофлюидным каналом для избирательного захвата бактерий, проходящих через микрофлюидный канал. Адсорбция бактерий внутри кантилевера приводит к изменению резонансной частоты (массы) и отклонению кантилевера (адсорбционному напряжению). Возбуждение захваченных бактерий с помощью инфракрасного излучения заставляет кантилевер отклоняться пропорционально инфракрасному поглощению бактерий, обеспечивая наномеханический инфракрасный спектр для избирательной идентификации. Авторы продемонстрировали обнаружение *Listeria monocytogenes in situ* при плотности одной клетки на мкл. Захваченная в микроканалах *E. coli* демонстрировала отчётливую наномеханическую реакцию при воздействии антибиотиков. Данный подход, сочетающий три различных режима обнаружения, может послужить платформой для разработки портативного высокопроизводительного устройства для использования в режиме реального времени для обнаружения бактерий и их реакции на антибиотики.

Применение микрофлюидного метода для оценки антибиотикорезистентности бактерий описано в работе [43] с использованием многопараметрического подхода на уровне отдельных клеток,

Основные сенсорные методы по оценке чувствительности бактерий к антибиотикам

Basic sensory methods for assessing the sensitivity of bacteria to antibiotics

№	Метод	Принцип действия	Время анализа	Источник литературы
1	3D-принтер электрохимического геля-модифицированного биосенсора	Электрохимическая импедансная спектроскопия	90 мин	[34]
2	Цифровой микрофлюидный тест	Оптический датчик кислорода для непрерывного измерения внеклеточного растворенного кислорода <i>in-situ</i> и в режиме реального времени	10 мин	[35]
3	Электрооптический датчик	Регистрация изменений электрооптических параметров микробных клеток после воздействия на них антибиотиком	не более 20 мин	[36]
4	Электрофотонный подход	Анализ и мониторинг на уровне одной бактерии, используя оптические пинцеты на основе фотонно-кристаллических полостей для улавливания отдельных бактерий	1–10 мин	[37]
5	Микромеханические осцилляторы, покрытые питательными слоями	Регистрация изменений резонансной частоты при увеличении массы бактерий в питательной среде, зависящей от чувствительности к определяемому антибиотику	Рост клеток в течение 1 ч	[38]
6	Наномеханические кантилеверные системы	Используется лазер и детекторная система для обнаружения отдельных бактериальных клеток в среде при их прохождении через лазерный фокус	45 мин	[39]
7	Наномеханические кантилеверные системы	Измерение микробного метаболизма за счёт изменения флуктуации (фоновый шум) преобразователя от времени	Несколько минут	[40]
8	Метод нанодвижений	Регистрация изменения сигнала сенсора до и после добавления антибиотика	Несколько часов	[41]
9	Микрокантилевер со встроенным микрофлюидным каналом	Изменение резонансной частоты (массы) и отклонения кантилевера (адсорбционное напряжение)	В режиме реального времени	[42]
10	Микрофлюидная система	Регистрация подвижности и морфологии отдельных бактерий при введении лекарств	Нескольких часов	[43]
11	Микрофлюидный гибридный метод	Анализ отдельных бактерий, время обнаружения пропорционально объёму пробы	—	[44]
12	Микрофлюидный чип	Микрофлюидный чип в комбинации с микроскопией для отслеживания индивидуального темпа роста бактерий	Менее 10 мин. Общее время тестирования от загрузки образца до получения результата менее 30 мин	[45]
13	Метод морфологического анализа одиночных клеток	Автоматический анализ морфологических изменений в отдельных бактериальных клетках	4 ч	[46]
14	Некультуральный тест с использованием технологии плазмонной визуализации и отслеживания	Отслеживание движения отдельных бактериальных клеток, привязанных к поверхности	—	[47]

Продолжение табл.

№	Метод	Принцип действия	Время анализа	Источник литературы
15	Метод визуализации с помощью микроскопии	Визуализация свободно перемещающихся бактериальных клеток в режиме реального времени и анализ полученного видео с помощью алгоритма обучения для определения ингибирующего действия антибиотика	30 мин	[48]
16	Метод на основе атомно-силовой микроскопии, способный обнаруживать движения биологических образцов на наноуровне	Отслеживание реакции бактерий на давление антибиотика	—	[49]
17	Фенотипический тест с использованием флуоресцентных микрогранул	Оценивается фенотипическое изменения бактерий	2 ч	[50]
18	Наномеханический датчик	Регистрация амплитуды измерений в связи с метаболизмом бактерий	менее 1 ч	[51]
19	Прямой метод визуализации колебаний внутри бактериальных клеток с использованием субклеточной флукуационной визуализации и микроскопии	Регистрация наномасштабных колебаний, которые уменьшаются при гибели бактерий после воздействия антибиотиков	Несколько мин	[52]
20	Кварцевый резонатор	Регистрация механических колебаний бактерий до и после влияния на них антибиотиком	7–15 мин	[53]
21	Сочетанный диско-диффузионный метод с микроволновым излучением	Изменение амплитуды при задержке роста бактерии при высоких концентрациях антибиотиков	менее чем 6 ч	[54]
22	Микроволново-микрофлюидный биосенсор	Скрининг изменений резонансной амплитуды и частотных характеристик сверхвысоко-частотной системы	500 мин	[55]
23	Датчик на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем на основе ниобата лития	Регистрация частотных зависимостей реальной и мнимой частей электрического импеданса резонатора после воздействия антибиотика на бактерии	10 мин	[56, 57]

который занимает около часа с момента внесения антибиотика в исследуемую культуру. Авторы показали, что гидродинамически улавливая сотни бактерий, можно одновременно отслеживать эволюцию подвижности и морфологии отдельных бактерий при введении лекарств. Такой комбинированный метод обнаружения даёт представление об активности противомикробных препаратов в самом начале их действия, чего не могут дать отдельные параметры и традиционные тесты.

С помощью микрофлюидного гибридного метода показана возможность определения антибиогаммы (или диаграммы чувствительности к антибиотикам) метициллинорезистентного *S. aureus* ко многим антибиотикам в одном эксперименте и оценки МПК препарата [44].

Микрофлюидный чип в сочетании с микроскопией для отслеживания индивидуального ро-

ста бактерий (при плотности 10^4 КОЕ/мл) при действии антибиотиков представлен в работе [45]. Авторы показали, что за считанные минуты (менее 10 мин) можно обнаружить изменения в скорости роста бактерий в ответ на каждый из исследуемых антибиотиков. Метод был протестирован на 49 клинических уropатогенных изолятах *E. coli*. Общее время тестирования чувствительности к антибиотикам от загрузки образца до получения диагностических показаний составляет менее 30 мин, что позволяет разработать тест для оказания медицинской помощи «на месте» для определения правильного лечения инфекции мочевыводящих путей.

Особенно популярны для анализа антибиотикочувствительности бактерий методы на основе машинного обучения и методы анализа видео-отслеживания отдельных клеток. В работе [46]

описан метод морфологического анализа одиночных клеток, который позволяет определять чувствительность к противомикробным препаратам путём автоматического анализа и классификации морфологических изменений в отдельных бактериальных клетках в различных антимикробных условиях. Авторы протестировали метод на лабораторных и клинических штаммах *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Полученные результаты показали 91,5% подтверждений со стандартными классическими методами.

Описан метод некультурального определения антибиотикочувствительности бактерий с использованием технологии плазмонной визуализации и отслеживания. Показано, что действие антибиотиков значительно замедляет движение бактерий, что можно оценить количественно [47].

Визуализация с помощью микроскопии свободно перемещающихся бактериальных клеток в моче в режиме реального времени и анализ полученного видео с помощью алгоритма обучения для определения ингибирования бактерий антибиотиком и изучения фенотипических особенностей клетки в течение 30 мин показаны в работе [48]. Метод применялся для определения МПК антибиотиков при инфекции мочевыводящих путей на лабораторном штамме *E. coli* (ATCC 43888) и клинических штаммах *E. coli*, выделенных из образцов мочи.

В другой работе [49] представлен метод для оценки антибиотикочувствительности бактерий (*E. coli*), основанный на атомно-силовой микроскопии, способный обнаруживать движения биологических образцов на наноуровне. На основе изменения дисперсии движений сенсора удалось отличить устойчивые штаммы *E. coli* от чувствительных в 16 из 17 слепо исследованных случаев.

Фенотипический тест с использованием флуоресцентных микрогранул для определения дифференцировки чувствительных и устойчивых бактерий в течение 2 ч описан в работе [50].

Благодаря высокой чувствительности, быстрому отклику и высокой пропускной способности, наномеханическая технология обладает большим потенциалом для преодоления некоторых ограничений традиционных методов анализа. Наномеханические биосенсоры относятся к подсемейству микроэлектромеханических систем, состоящих из подвижных подвешенных микроструктур, которые способны преобразовывать биологические процессы в измеримое механическое движение. Так, например, в работе [32] показаны перспективность наномеханических датчиков для обнаружения бактерий и определения их чувствительности к антибиотикам. Обнаружение патогенов (включая их метаболическую активность) происходит на поверхности сенсора, вызывая деформацию датчика (статический отклик) и/или

изменение резонансной частоты (динамическая характеристика). Так, например, благодаря объединению микроантилевера из нитрида кремния с золотым покрытием, содержащего встроенный микрожидкостный канал для захвата бактерий, и регистрации инфракрасных спектров, было разработано наномеханическое устройство для обнаружения бактерий в режиме реального времени и оценки их чувствительности к антибиотикам [32].

Наномеханический датчик в сочетании с флуоресцентной микроскопией применён для обнаружения движения бактерий на наноуровне для оценки их чувствительности к антибиотикам. Контролируя колебания датчика, этот метод может выявить наличие бактерий и оценить их чувствительность к антибиотикам менее чем за 1 ч [51].

Живые бактерии проявляют наномасштабные колебания, которые уменьшаются при гибели бактерий после воздействия антибиотиков. Прямой метод визуализации колебаний внутри бактериальных клеток с использованием субклеточной флукуационной визуализации и микроскопии полного внутреннего отражения позволяет измерить жизнеспособность бактерий в образце в течение нескольких минут, различая не только живые и мертвые клетки, но и устойчивые и чувствительные к антибиотикам [52].

В другой работе [53] описан способ регистрации механических колебаний бактерий до и после воздействия на них антибиотиков с помощью кварцевого резонатора на примере неподвижной кишечной палочки и антибиотиков (полимиксина В и ампициллина). Установлено, что в течение 7–15 мин можно тестировать восприимчивость бактерий к антибиотикам.

Описан уникальный способ определения антибиотикочувствительности бактерий, который сочетает в себе диско-диффузионный метод с микроволновым излучением для бесконтактного и неинвазивного зондирования и мониторинга. В исследовании описан эффект воздействия разных концентраций антибиотика (эритромицина) на тест-бактерии *E. coli* при их культивировании на твёрдой агаровой среде, который контролируют с помощью микроволнового резонатора. Изменение амплитуды свидетельствует о задержке роста бактерии при высоких концентрациях антибиотиков. Датчик продемонстрировал убедительные результаты чувствительности к антибиотикам менее чем за 6 ч и большие перспективы для расширения автоматизации рабочего процесса в клинических условиях [55]. Этим же коллективом авторов [56] описан микроволново-микрофлюидный биосенсор для быстрого, бесконтактного и неинвазивного тестирования концентрации и роста *E. coli* в среде с различным pH. Тонкий слой интерфейса между микрофлюидальным каналом и микроволновым резонатором значительно уве-

личил чувствительность обнаружения. Изменения параметров сенсорной системы (резонансной частоты и амплитуды) использовались для мониторинга роста бактерий в течение 500 мин в ответ на воздействие антибиотика.

Проведены исследования по оценке воздействия антибиотиков на микробные клетки с помощью пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем [57, 58] и установлено, что частотные зависимости реальной и мнимой частей электрического импеданса резонатора, нагруженного суспензией клеток после добавления к ним антибиотиков, значительно отличаются от аналогичных зависимостей для контрольной суспензии бактерий без добавления препарата. Разработанная сенсорная система позволяет проводить исследования при выполнении большого количества анализов, что значительно сокращает время, необходимое для оказания врачебной помощи, а время анализа не превышает 10 мин (без учёта времени подготовки образца).

Системы для оценки антибиотикочувствительности бактериальных биоплёнок

Установление чувствительности микробных клеток к определяемому антибиотику не гарантирует эффективность его воздействия в процессе лечения. Недостаточная эффективность действия антибиотиков часто связана с формированием бактериальных биоплёнок, в которые плохо проникают антибиотики [59, 60]. Биоплёнка действует как физический барьер, который снижает скорость проникновения антибиотиков. Известно, что низкие дозы антибиотиков могут стимулировать образование биоплёнок и ответственны за специфичную для биоплёнок устойчивость к противомикробным препаратам [61].

Используемые в медицине антибиотики разрабатывались против свободно плавающих бактериальных клеток (планктонная форма бактерий), и поэтому довольно часто лечение инфекций, связанных с биоплёнками, не даёт результата.

Поскольку чувствительность бактерий к антибиотикам в планктонной и биоплёночной формах значительно различаются, были введены дополнительные параметры для оценки их эффективности, такие как:

- а) минимальная концентрация антибиотика, ингибирующая рост биоплёнок;
- б) минимальная концентрация антибиотика, разрушающая биоплёнки [62];
- в) минимальная бактерицидная концентрация антибиотика для биоплёнок;
- г) концентрация антибиотика, предотвращающая образование биоплёнок [63].

Ряд исследователей определяют минимальную концентрацию антибиотика, разрушающую биоплёнку как самую низкую концентрацию антимикробного вещества, которая уничтожает 99,9% бактерий в составе биоплёнок по сравнению с контрольным вариантом [64].

Разработано множество лабораторных методов для оценки антибиотикочувствительности бактерий в составе биоплёнок, такие как: анализ на микротитровальных планшетах, устройство Калгари, реакторы суспендирования субстрата и системы проточных кювет — одни из наиболее часто используемых моделей для оценки чувствительности биоплёнок к антибиотикам *in vitro* [63–66]. Имеются наборы для тестирования минимальной концентрации антибиотика, разрушающей биоплёнки, такие как Assay®, ранее назывались Calgary Biofilm Device (Innovotech, Эдмонтон, Канада) [67], но они имеют некоторые ограничения для применения в клинической практике.

До сих пор ни одно из официальных агентств, таких как EUCAST или CLSI, не предоставили стандартизированные параметры для определения чувствительности к антибиотикам биоплёночных форм бактерий. Кроме того, методы для определения чувствительности биоплёнок к антибиотикам разработаны лишь для небольшого числа клинически значимых микроорганизмов. Поэтому исследовательские усилия направлены на развитие и разработку тест-систем анализа чувствительности бактерий в биоплёночной форме.

Биоплёнки состоят из разнообразных бактерий, которые производят внеклеточный матрикс, предотвращающий диффузию лекарств через них. Следовательно, традиционная терапия антибиотиками требует концентрации, в 500–5000 раз превышающей концентрацию, используемую для устранения инфекций, не связанных с биоплёнками [68]. Показана возможность контроля в режиме реального времени состояния бактериальной биоплёнки (в том числе и после воздействия на клетки антибиотиков) с помощью датчика поверхностных акустических волн, который контролирует общую биомассу путём измерения резонансной частоты системы. Данная методика имеет недостаток, поскольку система подвержена влиянию температуры, колебания которой также могут привести к изменению фазы и амплитуды сигнала и, соответственно, к искажению результатов анализа [68].

В другом исследовании представлена автономная система для анализа активности антибиотиков *in situ* на бактериальных биоплёнках с использованием кварцевых камертонов, чувствительных к вязкости и плотности [69].

В работе [70] представлена возможность мониторинга метаболической активности бактериальных биоплёнок с помощью наносенсора и ана-

лиза метаболитов глюкозы в растворах с высокой ионной силой (бактериальные среды) без предварительной обработки образцов. Биоплёнки обрабатывали антибиотиками, различающимися по механизму действия, и сравнивали с необработанными образцами. Для антибиотиков с разным механизмом действия (тетрациклин и ампициллин) реакция бактериальной биоплёнок в каждом случае была отличной. Обработка ампициллином снижала потребление глюкозы в начале воздействия (короткий период обработки не наносит вреда биомассе до уровня, когда потребление глюкозы прекращается). Длительная инкубация с ампициллином приводит к частичному лизису биомассы, поэтому потребляется только 60% глюкозы. В случае тетрациклина краткосрочное воздействие начинается с медленного увеличения потребления глюкозы до полного расходования метаболита; долгосрочная инкубация с тетрациклином повреждает биоплёнку и вызывает изменение метаболической активности, но не приводит к полному уничтожению бактерий [70].

В другом исследовании [71] разработан быстрый метод оценки чувствительности бактериальной биоплёнки в режиме реального времени на примере клеток *P. putida* и ампициллина. Суть метода заключается в анализе разницы между изменениями электрической поляризуемости биоплёнки после воздействия антибиотика.

В работе [72] представлена микрожидкостная платформа со встроенным встречно-штыревым датчиком (BiofilmChip) для анализа прикрепления бактериальных клеток, а выращенные биоплёнки контролировали с помощью конфокальной микроскопии или электрической импедансной спектроскопии. Метод оказался пригодным для измерения влияния противомикробных препаратов на биоплёнки.

Заключение

На данный момент мир существует в условиях, где быстро распространяется устойчивость

к антимикробным средствам и одновременно возрастает число препаратов, которые становятся неэффективными в отношении нозокомиальных и внебольничных инфекций. Заболевания, вызванные полирезистентными бактериями, отличаются тяжёлым течением, часто требуют госпитализации, увеличивают время пребывания в стационаре и ухудшают общий прогноз для пациентов. Отсутствие действенной антибиотикотерапии представляет собой как угрозу мирового масштаба для всех без исключения стран, так и угрозу для каждого конкретного человека, так или иначе сталкивающегося с патогенами [73, 74].

Около 50% лечения антибиотиками начинаются с неправильных антибиотиков и без правильной диагностики возбудителя. По просьбе Всемирной ассамблеи здравоохранения разработано руководство национальных планов действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам с учётом потребностей, обстоятельствами и имеющимися ресурсам в каждой отдельной стране [75]. Одним из направлений по борьбе с антибиотикорезистентностью на сегодняшний день является разработка методов ускоренного тестирования лекарственной чувствительности бактерий. Особое внимание в данном вопросе следует обратить на сенсорные системы анализа, позволяющие проводить исследования минуя предварительную обработку образца и получить результат в течение короткого временного промежутка.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного Фонда проект № 24-24-00309.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов. В работе не содержится исследований с участием людей или животных.

Литература/References

1. Lee A. S., de Lencastre H., Garau J., Kluytmans J., Malhotra-Kumar S., Peschel A. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Rev Dis Primers. 2018; 4 (1): 18033. doi: 10.1038/nrdp.2018.33.
2. Zhang F, Cheng W. The mechanism of bacterial resistance and potential bacteriostatic strategies. Antibiotics. 2022; 11 (9): 1215. doi: 10.3390/antibiotics11091215.
3. Roope L. S. J., Smith R. D., Pouwels K. B., Buchanan J., Abel L., Eibich P. et al. The challenge of antimicrobial resistance: What economics can contribute. Science. 2019; 364 (6435): eaau4679. doi: 10.1126/science.aau4679.
4. Theuretzbacher U., Gottwalt S., Beyer P., Butler M., Czaplewski L., Lienhardt C. et al. Analysis of the clinical antibacterial and antituberculosis pipeline. Lancet Infect. Dis. 2019; 19 (2): e40–e50. doi: 10.1016/s1473-3099 (18)30513-9.
5. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019; Antimicrobial Resistance. Tackling the Burden in the European Union, 2019. U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019. Atlanta, GA.
6. Rossen J. W. A., Tedim A. P., Murray A. K. The novel coronavirus COVID-19 outbreak: global implications for antimicrobial resistance. Front Microbiol. 2020; 11: 1020. doi: 10.3389/fmicb.2020.01020.
7. Rehman S. A parallel and silent emerging pandemic: Antimicrobial resistance (AMR) amid COVID-19 pandemic. J Infect Public Health. 2023; 16 (4): 611–617. doi: 10.1016/j.jiph.2023.02.021.
8. De Oliveira D. M. P., Forde B. M., Kidd T. J., Harris P. N. A., Schembri M. A., Beatson S. A. et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. Clin Microbiol Rev. 2020; 33 (3): e00181–19. doi: 10.1128/cmr.00181-19.
9. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAE-SAR). World Health Organization Regional Office for Europe. 2016. Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2016/central-asian-and-eastern-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance.-annual-report-2016>.
10. Sánchez Martín D., Wrande M., Sandegren L., Zardán Gómez de la Torre T. Naked-eye detection of antibiotic resistance gene *sul1* based on

Available from: www.cdc.gov/DrugResistance/Biggest-Threats.html. doi: <http://dx.doi.org/10.15620/cdc:82532>.

- aggregation of magnetic nanoparticles and DNA amplification products. *Biosensors and Bioelectronics*. X. 2022; 12: 12100277. doi: 10.1016/j.biosx.2022.100277.
11. Leung E., Weil D. E., Raviglione M., Nakatani H. The WHO policy package to combat antimicrobial resistance. *Bull World Health Organ*. 2011; 89 (5): 390–392. doi: 10.2471/blt.11.088435.
12. Aslam B., Wang W., Arshad M. I., Khurshid M., Muzammil S., Rasool M. H. et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist*. 2018; 11: 1645–1658. doi: 10.2147/idr.s173867.
13. Coates A., Hu Y., Bax R., Page C. The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2002; 1 (11): 895–910. doi: 10.1038/nrd940.
14. O'Connell K. M., Hodgkinson J. T., Sore H. F., Welch M., Salmond G. P., Spring D. R. Combating multidrug-resistant bacteria: current strategies for the discovery of novel antibacterials. *Angewandte Chemie International Edition*. 2013; 52 (41): 10706–10733. doi: 10.1002/anie.201209979.
15. Alekshun M., Levy S. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*. 2007; 128 (6): 1037–1050. doi: 10.1016/j.cell.2007.03.004.
16. Al Marjani M. F., Mohammed R. K., Ahmed Z. O., Mohialden Y. M. Artificial intelligence and the silent pandemic of antimicrobial resistance: A comprehensive exploration. *Journal La Multiapp*. 2024; 5 (1): 25–37. doi: 10.37899/journallamultiapp.v5i1.952.
17. Medernach R. L., Logan L. K. The growing threat of antibiotic resistance in children//*Infect Dis Clin North Am*. 2018; 32 (1): 1–17. doi: 10.1016/j.idc.2017.11.001.
18. Partridge S. R., Kwong S. M., Firth N., Jensen S. O. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2018; 31 (4): 1–61. doi: 10.1128/cmr.00088-17.
19. Aminov R. I. Horizontal gene exchange in environmental microbiota. *Front Microbiol*. 2011; 2: 158. doi: 10.3389/fmicb.2011.00158.
20. Cisneros-Mayoral S., Graña-Miraglia L., Pérez-Morales D., Peña-Miller R., Fuentes-Hernández A. Evolutionary history and strength of selection determine the rate of antibiotic resistance adaptation. *Mol Biol Evol*. 2022; 39 (9): msac185. doi: 10.1093/molbev/msac185.
21. Kummerer K. Resistance in the environment. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 54 (2): 311–320. doi: 10.1093/jac/dkh325.
22. Acar J. F., Moulin G. Antimicrobial resistance: a complex issue. *Rev Sci Tech*. 2012; 31 (1): 23–31. doi: 10.20506/rst.31.1.2098.
23. Andrews J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*. 2001; 48: 5–16. doi: 10.1093/jac/48.suppl_1.5.
24. Puttaswamy S., Gupta S. K., Regunath H., Smith L. P., Sengupta S. A comprehensive review of the present and future antibiotic susceptibility testing (AST) systems. *Archives of Clinical Microbiology*. 2018; 9 (03): 83. doi: 10.4172/1989-8436.100083.
25. MacGowan A. P., Wise R. Establishing MIC breakpoints and the interpretation of in vitro susceptibility tests. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 48: 17–28. doi: 10.1093/jac/48.suppl_1.17.
26. Marschal M., Bachmaier J., Autenrieth I., Oberhettinger P., Willmann M., Peter S. et al. Evaluation of the accelerate Pheno™ system for fast identification and antimicrobial susceptibility testing from positive blood culture in gram-negative bloodstream infection. *J Clin Microbiol*. 2017; 55 (7): 2116–2126. doi: 10.1128/jcm.00181-17.
27. Riediker S., Diserens J. M., Stadler R. H. Analysis of β -lactam antibiotics in incurred raw milk by rapid test methods and liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem*. 2001; 49 (9): 4171–4176. doi: 10.1021/jf010057k.
28. Reynoso E. C., Laschi S., Palchetti I., Torres E. Advances in antimicrobial resistance monitoring using sensors and biosensors: a review. *Chemosensors*. 2021; 9 (8): 232. doi: 10.3390/chemosensors9080232.
29. Guliy O. I., Zaitsev B. D., Borodina I. A. New approach for determination of antimicrobial susceptibility to antibiotics by an acoustic sensor. *App Microbiol Biotechnol*. 2020; 104 (3): 1283–1290. doi: 10.1007/s00253-019-10295-2.
30. Guliy O. I., Zaitsev B. D., Borodina I. A. Electroacoustic biosensor systems for evaluating antibiotic action on microbial cells. *Sensors (Basel)*. 2023; 23 (14): 6292. doi: 10.3390/s23146292.
31. Vasala A., Hytönen V. P., Laitinen O. H. Modern tools for rapid diagnostics of antimicrobial resistance. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 308. doi: 10.3389/fcimb.2020.00308.
32. Pujol-Vila F., Villa R., Alvarez M. Nanomechanical sensors as a tool for bacteria detection and antibiotic susceptibility testing. *Front Mech Eng*. 2020; 6: 44. doi: 10.3389/fmech.2020.00044.
33. Guliy O. I., Zaitsev B. D., Borodina I. A. Antibiotics and analytical methods used for their determination. In: Maurya P. K., Chandra P. Elsevier Ltd. editors. *Nanobioanalytical approaches to medical diagnostics*: Woodhead Publishing; 2022; Chapter 5; 143–177. ISBN 978-0-323-85147-3. doi: 10.1016/B978-0-323-85147-3.00004-9.
34. Domingo-Roca R., Lasserre P., Riordan L., Macdonald A. R., Dobrea A., Duncan K. R. et al. Rapid assessment of antibiotic susceptibility using a fully 3D-printed impedance-based biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*. X. 2023; 13: 100308. doi: 10.1016/j.biosx.2023.100308.
35. Qiu W., Nagl S. Automated miniaturized digital microfluidic antimicrobial susceptibility test using a chip-integrated optical oxygen sensor. *ACS Sens*. 2021; 6 (3): 1147–1156. doi: 10.1021/acssensors.0c02399.
36. Guliy O. I., Bunin V. D. Electrooptical analysis as sensing system for detection and diagnostics bacterial cells. In Chandra P., Pandey L. M. editors. *Biointerface engineering: prospects in medical diagnostics and drug delivery*: Springer, Singapore; 2020. Chapter 11. p. 233–254. ISBN 978-981-15-4789-8. doi: 10.1007/978-981-15-4790-4_11.
37. Condeuca D., Brunetti G., Dell'Olio F., Armenise M. N., Krauss T. F., Ciminelli C. Monitoring of individual bacteria using electro-photon traps. *Biomed Opt Express*. 2019; 10 (7): 3463–3471. doi: 10.1364/boe.10.003463.
38. Gfeller K. Y., Nugaeva N., Hegner M. Rapid biosensor for detection of antibiotic-selective growth of *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71 (5): 2626–2631. doi: 10.1128/aem.71.5.2626-2631.2005.
39. Bennett I., Pyne A. L. B., McKendry R. A. Cantilever sensors for rapid optical antimicrobial sensitivity testing. *ACS Sensors*. 2020; 5 (10): 3133–3139. doi: 10.1021/acssensors.0c01216.
40. Longo G., Alonso-Sarduy L., Rio L. M., Bizzini A., Trampuz A., Notz J. et al. Rapid detection of bacterial resistance to antibiotics using AFM cantilevers as nanomechanical sensors. *Nat Nanotechnol*. 2013; 8 (7): 522–526. doi: 10.1038/nnano.2013.120.
41. Villalba M. I., Stupar P., Chomicki W., Bertacchi M., Dietler G. et al. Nanomotion detection method for testing antibiotic resistance and susceptibility of slow-growing bacteria. *Small*. 2017; 14 (4). doi: 10.1002/smll.201702671.
42. Etayash H., Khan M. E., Kaur K., Thundat T. Microfluidic cantilever detects bacteria and measures their susceptibility to antibiotics in small confined volumes. *Nat Commun*. 2016; 7 (1): 12947. doi: 10.1038/ncomms12947.
43. Pitruzzello G., Thorpe S., Johnson S., Evans A., Gadelha H., Krauss T. F. Multiparameter antibiotic resistance detection based on hydrodynamic trapping of individual *E. coli*. *Lab Chip* 2019; 19 (8): 1417–1426. doi: 10.1039/c8lc01397g.
44. Boedicker J. Q., Li L., Kline T. R., Ismagilov R. F. Detecting bacteria and determining their susceptibility to antibiotics by stochastic confinement in nanoliter droplets using plug-based microfluidics. *Lab Chip*. 2008; 8 (8): 1265–1272. doi: 10.1039/b804911d.
45. Baltekin Ö., Boucharin A., Tano E., Andersson D. I., Elf J. Antibiotic susceptibility testing in less than 30 min using direct single-cell imaging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017; 114 (34): 9170–9175. doi: 10.1073/pnas.1708581114.
46. Choi J., Yoo J., Lee M., Kim E. G., Lee J. S., Lee S. et al. A rapid antimicrobial susceptibility test based on single-cell morphological analysis. *Sci Transl Med*. 2014; 6 (267): 267–174. doi: 10.1126/scitranslmed.3009650.
47. Syal K., Iriya R., Yang Y., Yu H., Wang S., Haydel S. E. et al. Antimicrobial susceptibility test with plasmonic imaging and tracking of single bacterial motions on nanometer scale. *ACS Nano*. 2016; 10 (1): 845–852. doi: 10.1021/acsnano.5b05944.
48. Yu H., Jing W., Iriya R., Yang Y., Syal K., Mo M. et al. Phenotypic antimicrobial susceptibility testing with deep learning video microscopy. *Anal Chem*. 2018; 90 (10): 6314–6322. doi: 10.1021/acs.analchem.8b01128.
49. Stupar P., Opota O., Longo G., Prod'hom G., Dietler G., Greub G. et al. Nanomechanical sensor applied to blood culture pellets: a fast approach to determine the antibiotic susceptibility against agents of bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect*. 2017; 23 (6): 400–405. doi: 10.1016/j.cmi.2016.12.028.
50. Toosky M. N., Grunwald J. T., Pala D., Shen B., Zhao W., D'Agostini C. et al. A rapid, point-of-care antibiotic susceptibility test for urinary tract infections. *J Med Microbiol*. 2020; 69 (1): 52–62. doi: 10.1099/jmm.0.001119.
51. Aghayee S., Benadiba C., Notz J., Kasas S., Dietler G., Longo G. Combination of fluorescence microscopy and nanomotion detection to characterize bacteria. *J Mol Recognit*. 2013; 26 (11): 590–595. doi: 10.1002/jmr.2306.
52. Bermingham C. R., Murillo I., Payot A. D. J., Balram K. C., Kloucek M. B., Hanna S. et al. Imaging of sub-cellular fluctuations provides a rapid way to observe bacterial viability and response to antibiotics. *BioRxiv*. 2018: 460139. doi: 10.1101/460139.
53. Johnson W. L., France D. C., Rentz N. S., Cordell W. T., Walls F. L. Sensing bacterial vibrations and early response to antibiotics with phase noise of a resonant crystal. *Sci Rep*. 2017. 7 (1): 12138. doi: 10.1038/s41598-017-12063-6.
54. Jain M. C., Nadaraja A. V., Narang R., Zarifi M. H. Rapid and real-time monitoring of bacterial growth against antibiotics in solid growth medium using a contactless planar microwave resonator sensor. *Sci Rep*. 2021; 11 (1): 14775. doi: 10.1038/s41598-021-94139-y.

55. Narang R., Mohammadi S., Ashani M. M., Sadabadi H., Hejazi H., Hossein Z. M. Sensitive, real-time and non-Intrusive detection of concentration and growth of pathogenic bacteria using microfluidic-microwave ring resonator biosensor. *Sci Rep.* 2018; 8 (1): 15807. doi: 10.1038/s41598-018-34001-w.
56. Гулий О. И., Зайцев Б. Д., Караваяева О. А., Ловцова Л. Г., Мехта С. К., Бородин И. А. Экспресс-анализ чувствительности бактерий к бета-лактамам антибиотикам с помощью резонатора с поперечным электрическим полем. *Антибиотики и химиотер.* 2019; 64 (1–2): 3–8. doi: <https://doi.org/10.24411/0235W2990W2019W10001>. [Guliy O. I., Zaitsev B. D., Karavaeva O. A., Lovtsova L. G., Mehta S. K., Borodina I. A. STAT analysis of the sensitivity of bacteria to beta-lactam antibiotics using a resonator with a transverse electric field. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2019; 64 (1–2): 3–8. doi: <https://doi.org/10.24411/0235W2990W2019W10001>. (in Russian)]
57. Гулий О. И., Зайцев Б. Д., Алсоев А. К. М., Караваяева О. А., Семёнов А. П., Бородин И. А. Экспресс-анализ воздействия аминокислот на бактерии с помощью сенсорной системы на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (1–2): 4–10. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-4-10>. [Guliy O. I., Zaitsev B. D., Alsowaidi A. K. M., Karavaeva O. A., Semyonov A. P., Borodina I. A. Rapid analysis of the effect of aminoglycosides on bacteria by using a sensor system based on a piezoelectric resonator with a lateral electric field. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68: 1–2: 4–10. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-4-10>. (in Russian)]
58. Dina N. E., Tahir M. A., Bajwa S. Z., Amin I., Valev V. K., Zhang L. SERS-based antibiotic susceptibility testing: Towards point-of-care clinical diagnosis. *Biosens Bioelectron.* 2023; 1: 219: 114843. doi: 10.1016/j.bios.2022.114843.
59. Романова Ю. М., Гинцбург А. Л. Бактериальные биоплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2011; 3: 99–109. [Romanova Yu. M., Gintsburg A. L. Bakterij'nye bioplenki kak estestvennaya forma sushchestvovaniya bakterij v okruzhajushchej srede i organizme khozaina. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2011; 3: 99–109. (in Russian)]
60. Dincer S., Masume Uslu E., Delik A. Antibiotic resistance in biofilm. *Bacterial Biofilms.* doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.92388>.
61. Bagge N., Ciofu O., Skovgaard L. T., Høiby N. Rapid development *in vitro* and *in vivo* of resistance to ceftazidime in biofilmgrowing *Pseudomonas aeruginosa* due to chromosomal betalactamase. *APMIS.* 2000; 108: 589–600. doi: 10.1034/j.1600-0463.2000.d01-102.x.
62. Thieme L., Hartung A., Tramm K., Klinger-Strobel M., Jandt K. D., Makarewicz O. et al. MBEC Versus MBIC: the lack of differentiation between biofilm reducing and inhibitory effects as a current problem in biofilm methodology. *Biological Procedures Online.* 2019; 21 (1): 18. doi: 10.1186/s12575-019-0106-0.
63. Rafeeq Z., Abid N., Liaquat N., Afridi P., Siddique S., Masood S. *In-vitro* investigation of antibiotics efficacy against uropathogenic *Escherichia coli* biofilms and antibiotic induced biofilm formation at subminimum inhibitory concentration of ciprofloxacin *Infect Drug Resist.* 2020; 13: 2801–2810. doi: 10.2147/idr.s258355.
64. Macia M. D., Rojo-Molinero E., Oliver A. Antimicrobial susceptibility testing in biofilm-growing bacteria. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20 (10): 981–990. doi: 10.1111/1469-0691.12651.
65. Dall G. E., Tsang S. J., Gwynne P. J., MacKenzie S. P., Simpson A., Breusch S. J. et al. Unexpected synergistic and antagonistic antibiotic activity against *Staphylococcus* biofilms. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73 (7): 1830–1840. doi: 10.1093/jac/dky087.
66. Cruz C. D., Shah S., Tammela P. Defining conditions for biofilm inhibition and eradication assays for gram-positive clinical reference strains. *BMC Microbiology.* 2018; 18 (1): 173. doi: 10.1186/s12866-018-1321-6.
67. Magana M., Sereti C., Ioannidis A., Mitchell C. A., Ball A. R., Magiorkinis E. et al. Options and limitations in clinical investigation of bacterial biofilms. *Clin Microbiol Rev.* 2018; 31 (3): e00084-16. doi: 10.1128/CMR.00084-16.
68. Kim Y. W., Meyer M. T., Berkovich A., Subramanian S., Iliadis A. A., Bentley W. E. et al. A surface acoustic wave biofilm sensor integrated with a treatment method based on the bioelectric effect. *Sensors and Actuators A: Physical.* 2016; 238: 140–149. doi: 10.1016/j.sna.2015.12.001.
69. Piasecki T., Gula G., Waszczuk K., Drulis-Kawa Z., Gotszalk T. Quartz tuning fork as *in-situ* sensor of bacterial biofilm. *Procedia Engineering.* 2014; 87: 369–372. doi: 10.1016/j.proeng.2014.11.740.
70. Yeor-David E., Zverzhinetsky M., Krivitsky V., Patolsky F. Real-time monitoring of bacterial biofilms metabolic activity by a redox-reactive nanosensors array. *J Nanobiotechnol.* 2020; 18 (1): 81. doi: 10.1186/s12951-020-00637-y.
71. Guliy O. I., Evstigneeva S. S., Shirokov A. A., Bunin V. D. Sensor system for analysis of biofilm sensitivity to ampicillin. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2024; 108: 172. doi: 10.1007/s00253-023-12831-7.
72. Blanco-Cabra N., López-Martínez M. J., Arévalo-Jaimes B. V., Martín-Gómez M. T., Samitier J., Torrents E. A new BiofilmChip device for testing biofilm formation and antibiotic susceptibility. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2021; 7 (1): 62. doi: 10.1038/s41522-021-00236-1.
73. Catalano A., Iacopetta D., Ceramella J., Scumaci D., Giuzio F., Saturnino C. et al. Multidrug resistance (MDR): a widespread phenomenon in pharmacological therapies. *Molecules.* 2022; 27 (3): 616. doi: 10.3390/molecules27030616.
74. Ding P., Gao Y., Wang J., Xiang H., Zhang C., Wang L. et al. Progress and challenges of multidrug resistance proteins in diseases. *Am J Cancer Res.* 2022; 12 (10): 4483–4501.
75. Antimicrobial resistance: a manual for developing national action plans. Publications of the World Health Organization: 2016. 2016. ISBN 978-92-4-154953-0. Available from: web site (www.who.int).

Поступила/Received 01.03.2024

Принята в печать/Accepted 05.04.2024

Информация об авторах

Гулий Ольга Ивановна — д. б. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФМ РАН), Саратов, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0541-0020.

Караваяева Ольга Александровна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФМ РАН), Саратов, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0665-1846.

About the authors

Olga I. Guliy — D. Sc. in Biology, Professor, Leading researcher Biochemistry Laboratory of Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences — Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0541-0020.

Olga A. Karavaeva — Ph. D. in Biology, Researcher of Biochemistry Laboratory of Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences — Subdivision of the Federal State Budgetary Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0665-1846.