

УДК 616-093/-98

DOI: 10.14427/jipai.2022.1.17

## Диагностические наборы ID-STREP и AB-STRB для диагностики возбудителей стрептококковой инфекции и определения их резистентности к антибиотикам с учетом способности образовывать матрикс биопленки

В.К. Окулич, А.Н. Пинчук, В.Е. Шилин, Н.Э. Колчанова, А.Е. Матусевич, Т.Н. Лептеева, А.А. Коржова

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

## ID-STREP и AB-STRB diagnostic kits for diagnosing streptococcus infections and determination of antibiotic resistance including propensity to biofilm formation

V.K. Okulich, A.N. Pinchuk, V.E. Shilin, N.E. Kolchanova, E.A. Matusевич, T.N. Lepteeva, A.A. Korzhova

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

### Аннотация

Современные диагностические наборы и оборудование для определения видовой принадлежности и тестирования резистентности к антибиотикам многих бактерий разработаны медицинской промышленностью в различных странах. Однако наборы используемых антибактериальных препаратов часто не совпадают с сертифицированными в ЕврАзЭС и не учитывают способность микроорганизмов образовывать биоплёнку. Целью исследования являлось создание диагностических наборов для определения видовой принадлежности и тестирования резистентности к антибиотикам возбудителей *Streptococcus spp.* с учётом их способности образовывать матрикс биоплёнки. Результатом исследования стали разработка и регистрация диагностических наборов AB-STRB и ID-STREP, которые позволяют определить чувствительность к 19 антибактериальным препаратам, наиболее часто использующимся в лечебных учреждениях, и дают возможность идентифицировать 44 вида бактерий семейства *Streptococcaceae* с учетом способности бактерий формировать биоплёнку.

### Ключевые слова

Биопленка, диагностика, антибиотики, бактерии, стрептококк.

### Summary

Modern diagnostic kits and equipment for species determination and testing of antibiotic resistance of many bacteria have been developed by the medical industry in different countries. However, the range of antibacterial drugs used often does not match those certified in EurAsEC and does not take into account the ability of microorganisms to form biofilm. The purpose of this research was to create diagnostic kits for species identification and testing of antibiotic resistance of *Streptococcus spp.* pathogens with the ability to make a biofilm matrix. The outcome of the study was the development and registration of diagnostic kits AB-STRB and ID-STREP, which allow determination of sensitivity to 19 antibacterial drugs most commonly used in medical institutions, and identification 44 types of bacteria in the family *Streptococcaceae*, as well as the ability of bacteria to form biofilm.

### Keywords

Biofilm, diagnostics, antibiotics, bacteria, streptococcus.

## Введение

Бактерии, имеющие в составе клеточной стенки пептидогликан и окрашивающиеся по Граму положительно, занимают существенное место среди причин инфекционной патологии. Лидирующее место среди последних занимают представители *Streptococcus spp.* По современным данным, кроме *S. pyogenes*, возбудителями гнойно-воспалительных инфекций более часто становятся другие стрептококки [1]. Наличие у бактерий факторов патогенности, включающих факторы защиты от антибиотиков, антисептиков и других механизмов защиты от внешних воздействий, обеспечивает относительно слабую эффективность как проводимого лечения, так и дезинфекционных мероприятий.

Большинство микробиот в естественных и искусственно созданных условиях существуют в виде биопленок [2, 3]. Биоплёнка – сообщество бактерий, которые прикреплены к поверхности и друг к другу, находящихся в матриксе синтезированных ими полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот. Что приводит к изменениям фенотипических проявлений, скорости размножения, а на уровне генотипа – активации определенных генов. При этом при переходе микробиоты из планктонной формы в состав биоплёнки происходит резкое снижение чувствительности к антибиотикам [4, 5].

В настоящее время медицинская промышленность различных стран производит разнообразные диагностические наборы и оборудование для определения видовой принадлежности и тестирования резистентности к антибиотикам различных бактерий [6]. Несмотря на имеющиеся хорошие характеристики, при применении в лабораториях диагностического профиля на территории ЕврАзЭС данные диагностические наборы приобретают и ряд негативных черт. Так, диагностические наборы и дополнительные расходные материалы одного производителя не имеют возможности применяться с оборудованием для автоматической регистрации результатов другого. В зарубежных наборах для идентификации и тестирования резистентности к антимикробным препаратам список используемых антибиотиков может не соответствовать перечню антибиотиков, сертифицированных в ЕврАзЭС. Эти обстоятельства ограничивают использование импортных диагностических наборов в отечественных отделениях лабораторной диагностики. Кроме того, зарубежные производители не производят диагностические наборы для определения резистентности стрептококков к

антимикробным препаратам с учётом их способности образовывать матрикс биоплёнки.

Принимая во внимание вышеизложенное, нам видится необходимым разработать отечественные диагностические наборы для определения видовой принадлежности и тестирования резистентности к антибиотикам представителей семейства стрептококков с учётом их способности образовывать матрикс биоплёнки и создать на основе отечественного оборудования автоматизированный комплекс для учета результатов.

*Цель* – создать диагностические наборы для определения видовой принадлежности и тестирования резистентности к антибиотикам возбудителей *Streptococcus spp.* с учётом их способности образовывать матрикс биоплёнки, используя автоматизированный подход.

## Материалы и методы

Забор материала проводили из очага инфекции, используя при этом биоптаты, гной, что позволило получить лучшие результаты, чем при исследовании с использованием тампонов.

Для изучения продукции биоплёнки возбудителями одонтогенной инфекции идентифицировали и изучили 148 клинических изолятов, тестировали резистентность стрептококков и энтерококков к 19 антимикробным препаратам с учетом способности образовывать матрикс биоплёнки.

Посев исследуемого материала, его выделение, идентификацию до вида и тестирование резистентности к антибиотикам микроорганизмов возбудителей гнойно-воспалительных инфекционных заболеваний проводили стандартными методами с использованием Колумбия-агар.

Для определения видовой принадлежности использовали диагностические наборы фирмы Биомерье rapid ID 32 STREP.

Определение видовой принадлежности проводили с использованием отдельно растущей колонии или после выделения чистой культуры. Получали взвесь микроорганизмов требуемого стандарта МакФарланда. Полученную суспензию переносили в лунки стрипа. В дальнейшем руководствовались рекомендациями фирмы-изготовителя. Учет результатов производили на баканализаторе фирмы Биомерье.

С целью определения резистентности стрептококков к антибактериальным препаратам применяли диагностические наборы фирмы Биомерье ATB STREP 5, ATB ENTEROC 5 и дискодиффузионный метод.

Статистический анализ данных проводили с помощью компьютерной программы «Statistica

10.0» и «Excel». Нормальность распределения проводили предварительно с использованием теста Шапиро-Уилка. Образцы сравнивали между собой критерием Фишера.

### Результаты и обсуждение

Нами создана программа «bactoSTREP» [7], предназначенная для определения видовой принадлежности имеющих клиническое значение представителей семейства Streptococcaceae по субстратному профилю. Данное программное обеспечение может быть применено для определения резистентности их к антибактериальным препаратам с учетом способности образовывать матрикс биоплёнки. Программное обеспечение имеет в своем составе два программных модуля: первый – для определения видовой принадлежности, второй – для определения резистентности к антибактериальным препаратам.

Первый модуль позволяет произвести видовую принадлежность после оценки цветового перехода в лунках с субстратами в диагностическом наборе ID-STREP.

С целью определения видовой принадлежности в программном обеспечении применяли кластерный анализ. Последний позволяет проводить оценку не по одному показателю, а по их определенному набору. Это позволяет учитывать значимость каждого признака для определения видовой принадлежности стрептококков.

Изначально нами было отобрано 32 теста из определителя микроорганизмов Bergey [8, 9], которые используются для идентификации стрептококков. Для объективности выбора был использован математический (информативность признаков) подход с учетом других важных критериев. Информативность признака показывает, насколько с ним связано принятие правильного решения для определения видовой принадлежности бактерии.

Shannon-Fano method выбран нами для расчета информативности признака и позволяет оценить объем информации градации признака от 0 до 1. Нами использован следующий алгоритм (рис. 1), который реализован в виде отдельного модуля программного обеспечения с

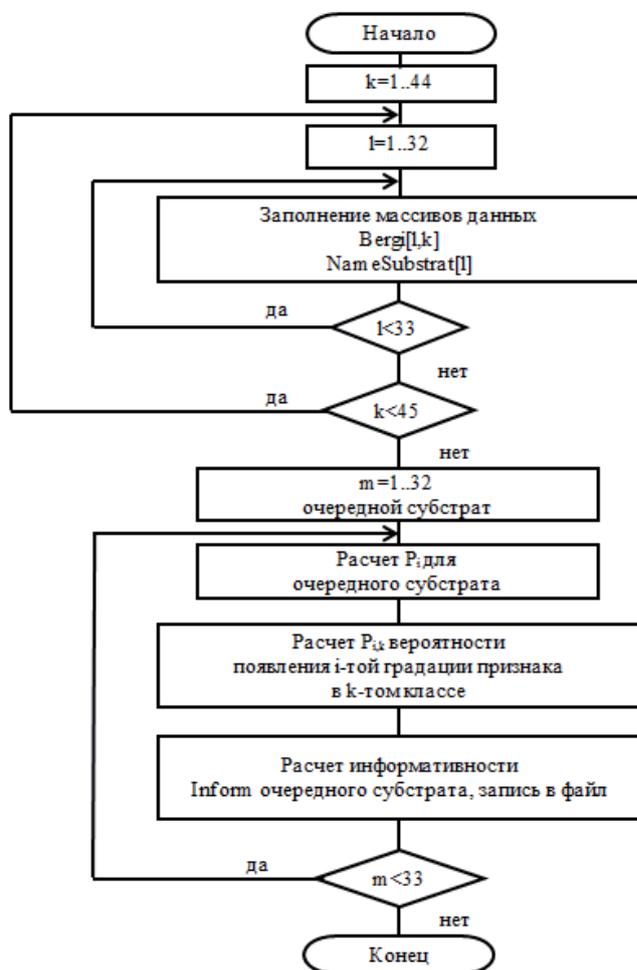


Рис. 1. Информативность Shannon-Fano method

целью определения видовой принадлежности стрептококков.

Полученные данные были внесены и для иллюстрации преобразованы нами в таблицу 1.

В результате полученных данных, с учетом стоимости субстратов, информативности и воспроизводимости тестов определен список 22 субстратов, вошедших в диагностический набор ID-STREP, для идентификации наиболее значимых, с точки зрения клиники, бактерий семейства Streptococcaceae: D-мелибиоза, D-лактоза, D-сахароза, D-рибоза, D-мелицитоза, L-арабиноза, D-маннит, D-трегалоза, D-тагатоза,  $\alpha$ -циклодекстрин, D-мальтоза, метил- $\beta$ D-глюкопиранозид, 4-нитрофенил- $\beta$ D-галактопиранозид, 4-нитрофенил- $\alpha$ D-галактопиранозид, 2-нафтил- $\beta$ D-галактопиранозид, пироглютаминат- $\beta$ -нафтиламид, D-раффиноза, резорифин- $\beta$ D-глюкопиранозид, резорифин- $\beta$ D-галактопиранозид, Na пируват, Na гиппурат, пуллулан.

В результате нами использована совокупность признаков для 44 представителей Streptococcus spp., которые включают 22 значения. Каждый такой кластер представляет собой определенное значение (вид микроорганизма) в 22-мерном континууме. Определяемый вид стрептококка

имеет соответственно свои характеристики в этом многомерном континууме, и с помощью программного обеспечения оценивается расстояние до заданного места (эталона). Чем меньше в континууме расстояние между видами, тем больше вероятность, что они идентичны [10].

Второй модуль предназначен для определения резистентности к антибактериальным препаратам стрептококков и энтерококков с учетом их способности формировать биоплёнку с помощью диагностического набора AB-STRB инструментально при помощи иммуноферментного анализатора или визуально.

Данное программное обеспечение имеет регистрационный номер 954 (от 6 июня 2017). Программное обеспечение предназначено для использования в микробиологических лабораториях для врача-бактериолога при оснащении рабочего места фотометром, компьютером с разработанным нами программным обеспечением и диагностическими наборами ID-STREP и AB-STRB.

В результате совокупности выполненного научно-практического исследования с целью определения видовой принадлежности стрептококков, возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний, нашим коллективом разработан диагностический

**Таблица 1. Информативность диагностических тестов**

№	Субстрат	Информативность	№	Субстрат	Информативность
1	резорифин- $\beta$ D-галактопиранозид	0,706	17	гликоген	0,534
2	L-глицил-L-триптофан- $\beta$ -нафтиламид	0,689	18	$\alpha$ -циклодекстрин	0,523
3	D-тагатоза	0,684	19	пуллулан	0,522
4	2-нафтил- $\beta$ D-галактозидаза	0,650	20	L-аргинин	0,516
5	4-нитрофенил- $\beta$ D-галактопиранозид-2-СНА	0,640	21	D-трегалоза	0,513
6	6-бromo-2-нафтил-N-ацетил- $\beta$ -глюкозаминид	0,633	22	пироглютаминат- $\beta$ -нафтиламид	0,500
7	метил- $\beta$ D-глюкопиранозид	0,598	23	D-лактоза	0,454
8	D-раффиноза	0,592	24	4-нитрофенил- $\beta$ D-маннопиранозид	0,447
9	D-сорбит	0,587	25	L-арабиноза	0,441
10	натрия гиппурат	0,584	26	резорифин- $\beta$ D-глюкуронид	0,338
11	4-нитрофенил- $\alpha$ D-галактопиранозид	0,582	27	L-аланил-L-фенилаланил-L-пролин- $\beta$ -нафтиламид	0,301
12	D-рибоза	0,544	28	мочевина	0,293
13	D-маннит	0,544	29	D-сахароза	0,291
14	резорифин- $\beta$ D-глюкопиранозид	0,543	30	D-мальтоза	0,252
15	D-мелибиоза	0,541	30	D-мелицитоза	0,250
16	натрия пируват	0,541	32	D-арабит	0,169

набор ID-STREP, который основан на определении биохимических признаков микроорганизмов.

Разработанный диагностический набор ID-STREP позволяет определить микробиологический профиль 4 штаммов одновременно. Он был создан на основе 96-луночного планшета для иммуноферментного анализа.

Выпущенные диагностические наборы состоят из следующих компонентов: планшет с субстратами и пакетиком с силикагелем, четыре флакона стерильной деионизированной воды объёмом 5 мл, четыре наконечника стерильных объёмом 0,2 мл для автоматических дозаторов. Данные наборы позволяют сократить время исследования. Концентрации и наименования субстратов представлены в таблице 2.

При необходимости набор комплектуется дополнительно: для лунки Гип реактивом НИН (нингидрин 7 г, метанол 40 мл, диметилсульфоксид 60 мл); для лунки Вп реактивами Вп А (гидроксид калия 20 г, H<sub>2</sub>O 100 мл) и Вп В (α-нафтол 12 г, этанол 100 мл); для лунки β-гал реактив ФБ (лаурилсульфат натрия 7,5 г, диметилформамид 50 мл, диметилсульфоксид 50 мл, прочный синий 0,14 г).

Определение видовой принадлежности бактерий с применением разработанных нами диагностических наборов начинают с прогревания составляющих его компонентов до температуры от 18 до 23°C в течение 20-30 минут. Лабораторные манипуляции проводят в стерильных условиях, бокс обрабатывают ультрафиолетовым облучением в течение 30 мин непосредственно перед постановкой тест-систем. Суспензии исследуемых суточных культур стрептококков мутностью 3,0 единиц МакФарланда готовят на 2 мл стерильной деионизированной воды. Сразу после приготовления полученную взвесь помещают в лунки тест-системы по 150 мкл. Планшет инкубируют при температуре 36±2°C в течение 24 часов в аэробных условиях.

На следующем этапе в лунки планшета вносят следующие реактивы:

- Лунка Вп: по две капли реактивов Вп А и Вп В.
- Лунка Гип: две капли реактива НИН.
- Лунка β-гал две капли реактива ФБ.

Учет результатов производят по истечении 5 минут в автоматическом режиме с помощью иммуноферментного анализатора с программным обеспечением «bactoSTREP» или визуально, а также по фотографии образца.

Комплектация разработанного диагностического набора ID-STREP, возможность различных вариантов учета результатов удобна для использования в микробиологических лабораториях для врача-бактериолога.

Для внутреннего апробирования диагностического набора ID-STREP с использованием программы «bactoSTREP» определяли видовую принадлежность 43 изолятов. Параллельно определение видовой принадлежности микроорганизмов производили диагностическими наборами производства Биомерье rapid ID STREP. Итоговым результатом явилось полное совпадение с точностью до рода и вида в двух программах – 96%, в то же время полное несовпадение – 4%.

37 комплектов диагностических наборов ID-STREP для исследования (148 штаммов) прошли клинические испытания на соответствие клинико-аналитическим характеристикам на базах УЗ «Городская инфекционная клиническая больница» г. Минск, УЗ «Пинская центральная больница» и ГУ «Брестский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья». Диагностический набор ID-STREP прошел оценку качества и воспроизводимости. При сравнении контрольного образца  $p > 0,05$  (критерий Фишера) процент несовпадения результатов составил ≤10%, что соответствует параметру специфичности, заданному программой клинических испытаний. После проведения государственной регистрации в Белорусском государственном институте стандартизации и сертификации на диагностический набор ID-STREP (под наименованием тест-система «ИД-СТРЕП» для идентификации стрептококков ТУ ВУ300002704.025-2020) выдано регистрационное удостоверение Министерства здравоохранения Республики Беларусь №ИМ-7.108097/2005 от 19.12.2019.

Для определения резистентности к антибактериальным препаратам стрептококков и энтерококков с учетом их способности образовывать матрикс биоплёнки нами создан диагностический набор AB-STRB.

Разработанный диагностический набор создан на основе двух 96-луночных планшетов для иммуноферментного анализа, который определяет антибактериальную чувствительность сразу у 4-х штаммов к 19 антибактериальным препаратам. Разведенный антибиотик в одной пороговой концентрации содержится в каждой лунке.

В состав диагностического набора входят следующие компоненты: планшет №1 содержит 96 лунок для определения резистентности 4-х изолятов. Каждая последняя лунка чётного ряда является положительным контролем и не содержит антибактериальных препаратов. Первая пара лунок каждого нечётного ряда использована для определения способности бактерий формировать матрикс биоплёнки, а первая пара лунок

каждого нечётного – отрицательный контроль формирования матрикса. Антибиотики содержат оставшиеся 19 лунок планшета (табл. 3), их расположение и концентрации в лунках представлены в таблице 4.

Планшет №2 – для определения чувствительности микроорганизма в составе биоплёнки. Активные ингредиенты с указанной концентрацией,

а также их расположение в лунках планшета отображены в таблицах 5 и 6.

Дополнительно набор комплектуется питательной средой для культивирования стрептококков, 0,9% раствором стерильным NaCl и законечниками стерильными 0,2 мл.

Постановку опыта по определению резистентности с применением разработанных диагности-

**Таблица 2. Концентрации субстратов в лунках планшета (мг/лунка после внесения бактериальной взвеси)**

Обозначения субстратов	Номер лунки											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
для рядов:												
- А, С, Е, G	Риб	Ман	Лак	Тре	Раф	Сак	Лара	Цдекс	Пул	Мал	Мел	Млз
	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,275	0,55	0,55	0,55	0,55
- В, D, F, H	Мбдг	Таг	Пал	α-гал	β-гал	Пир-А	β-глю	β-гар	Вп	Гип		
	0,55	0,55	0,084	0,096	0,038	0,254	0,0032	0,0032	0,19	1,5		

**Таблица 3. Активные ингредиенты тестов для планшета №1**

Название антибиотика	Сокращенное обозначение	Активные ингредиенты	Кол-во мг/л
Биопленка	БП	–	–
Биопленка	БП	–	–
Контроль биопленки (Б)	КБП	–	–
Контроль биопленки (Б)	КБП	–	–
Амикацин Е (164)	Ами	Амикацин Е	164
Амоксициллин+Клавуланат (0,5)	Ам+К	Амоксициллин+Клавуланат	0,5
Ампициллин Е (8)	Амп	Ампициллин Е	8
Ампициллин+Сульбактам (0,5)	Ам+С	Ампициллин+Сульбактам	0,5
Бензилпенициллин (0,25)	Бен	Бензилпенициллин	0,25
Ванкомицин Е (2)	ВанЕ	Ванкомицин Е	2
Гентамицин Е (128)	ГенЕ	Гентамицин Е	128
Имипенем (2)	Ими	Имипенем	2
Левифлоксацин Е (2)	ЛевЕ	Левифлоксацин Е	2
Линезолид (4)	Лин	Линезолид	4
Меропенем (2)	Мер	Меропенем	2
Моксифлоксацин (0,5)	Мок	Моксифлоксацин	0,5
Стрептомицин Е (512)	СтрЕ	Стрептомицин Е	512
Тетрациклин Е (4)	ТетЕ	Тетрациклин Е	4
Тигециклин Е (4)	ТигЕ	Тигециклин Е	4
Фосфомицин Е (4)	ФосЕ	Фосфомицин Е	4
Хлорамфеникол Е (8)	ХлоЕ	Хлорамфеникол Е	8
Ципрофлоксацин (0,5)	Цип	Ципрофлоксацин	0,5
Эритромицин Е (0,5)	ЭриЕ	Эритромицин Е	0,5

**Таблица 4. Расположение и концентрации (в мг/л) антибиотиков в лунках планшета №1**

Обозначения антибиотиков	Номер лунки											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
- А, С, Е, G	БП	БП	АмиЕ	Ам+К	Ам+С	АмпЕ	Бен	ВанЕ	ГенЕ	Ими	ЛевЕ	Лин
			164	0,5	0,5	8	0,25	2	128	2	2	4
- В, D, F, H	КПБ	КПБ	Мер	Мок	СтрЕ	ТетЕ	ТигЕ	ФосЕ	ХлоЕ	Цип	ЭриЕ	К
			2	0,5	512	4	4	4	8	0,5	0,5	

Примечание: БП – биоплёнка; КПБ – контроль биоплёнки; К – положительный контроль для оценки роста бактерий

ческих наборов производят в несколько этапов. Изначально готовят взвесь бактерий. Микробиологической петлёй берут колонию стрептококков или энтерококков, выращенную предварительно за 24 часа в термостате при температуре от 35 до 37°C на питательной среде, рекомендованной для роста данных микроорганизмов, и вносят ее во флакон с 2 мл стерильного раствора 0,9% NaCl из комплекта набора. Концентрацию полученной взвеси доводят до 0,5 единиц МакФарланда. Переносят 0,2 мл в ампулу с питательной средой АБС из набора. После перемешивания в каждую лунку тест-системы помещают 0,135 мл АБС среды (концентрация микроорганизмов соответственно составляет около трех миллионов КОЕ/мл). Инкубируют в термостате в течение суток при температуре от 35 до 37°C в условиях содержания углекислого газа от 5 до 10%.

Визуальный или инструментальный учет производят непосредственно после завершения инкубации. Рост в лунке планшета при визуальном учёте указывает на резистентность исследуемого изолята к антибиотику. В то же время отсутствие видимого роста указывает на чувствительность изолята к данному антибиотику.

Учёт результатов проводили на анализаторе иммуноферментном, используя длину волны 450 нм, с компьютером, предварительно установив программное обеспечение «bactoSTREP». Полученные в результате измерения данные считали следующим образом. При оптической плотности  $\geq 0,2$  изолят – резистентен, а  $\leq 0,13$  соответственно – чувствителен. При оптической плотности от 0,2 до 0,13 – результат сомнительный, требуется

визуальный учет с внесением правки в результат, выданный программой. Количество матрикса биоплёнки при этом определяют программным обеспечением «bactoSTREP».

При условии, что исследуемый штамм образует экзополимерный матрикс биоплёнки, диагностический набор в комплексе с иммуноферментным анализатором программно анализирует антибактериальные средства, которые неэффективны в отношении микроорганизмов в составе биоплёнки.

Второй этап исследования осуществляется с применением планшета №2. С помощью диагностического набора определяют резистентность стрептококка в составе матрикса биоплёнки. Данный диагностический набор содержит антибактериальные препараты, которые могут проникать через экзополимерный матрикс, что соответствует литературным данным и проведенным нами исследованиям [1]. В диагностический набор для определения чувствительности стрептококков в составе биоплёнки к антибиотикам вошли следующие антибактериальные средства из группы фторхинолонов: ципрофлоксацин, левофлоксацин и моксифлоксацин, а из других клинически важных групп – фосфомицин, тигециклин и линезолид.

Были проведены предварительные внутренние медицинские испытания для оценки диагностического набора AB-STRB на соответствие клиническим и аналитическим характеристикам (использовано 12 штаммов). При сравнении с диско-диффузионным методом диагностическими наборами производителя Биомерье ATB ENTEROC 5 и ATB STREP несоответствие результатов исследования показало  $\leq 10\%$ .

**Таблица 5. Активные ингредиенты тестов для планшета №2**

Название Антибиотика	Сокращенное обозначение	Активные ингредиенты	Кол-во мг/л
Моксифлоксацин (2)	Мок	Моксифлоксацин	2
Левифлоксацин Е (2)	ЛевЕ	Левифлоксацин Е	2
Ципрофлоксацин (2)	Цип	Ципрофлоксацин	2
Тигециклин Е (0,5)	ТигЕ	Тигециклин Е	0,5
Линезолид (4)	Лин	Линезолид	4
Фосфомицин Е (4)	ФосЕ	Фосфомицин Е	4
Контроль	К	-	-

**Таблица 6. Расположение и концентрации (в мг/л) антибиотиков в лунках планшета №2**

Обозначения антибиотиков для рядов:	Номер лунки											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
- А, С, Е, G	Мок	ЛевЕ	Цип	ТигЕ	Лин	ФосЕ						К
	2	2	2	0,5	4	4						

Примечание: К – положительный контроль

## Выводы

1. Разработана система для идентификации бактерий семейства стрептококков на основе диагностического набора ID-STREP, который включает 22 теста, определяющих субстратный профиль, и позволяет определять видовую принадлежность сорока четырех видов бактерий семейства стрептококков, играющих ведущую роль в этиологии гнойно-воспалительных заболеваний, в основном хирургического профиля, с возможностью визуального и автоматизированного учета результатов при помощи адаптированного иммуноферментного анализатора, компьютера и программы «bactoSTREP».
2. В Национальном центре интеллектуальной собственности прошла регистрацию программа «bactoSTREP» на основе кластерного анализа для определения видовой принадлежности и чувствительности к антибактериальным препаратам бактерий семейства стрептококков.
3. Внесен в реестр Министерства здравоохранения Республики Беларусь разработанный диагностический набор АВ-STRB, позволяющий определить резистентность к 19 антибиотикам, играющим ведущую роль в лечении гнойно-воспалительных заболеваний преимущественно хирургического профиля, с

возможностью визуального и автоматизированного учета результатов при помощи адаптированного иммуноферментного анализатора, компьютера и программы «bactoSTREP». Диагностический набор показал полное соответствие заданным в программе испытаний параметрам показателей как качества, так и воспроизводимости ( $p > 0,05$ ); соответствует показателям специфичности сравнительно с диско-диффузионным методом (несовпадение результатов исследования показало  $\leq 10\%$ ).

4. В настоящее время на территории Евразийского экономического союза впервые разработана автоматизированная система на основе адаптированного иммуноферментного анализатора и компьютера с программой «bactoSTREP». Внедрение диагностического набора АВ-STRB с целью определения резистентности стрептококков и энтерококков, состоящего из планшетов с антибактериальными препаратами, который включает два последовательных этапа исследований, дает возможность создавать рациональные протоколы лечения стрептококковых гнойно-воспалительных заболеваний с учетом их возможности формировать экзополимерный матрикс биопленки.

## Литература

1. Окулич В.К., Кабанова А.А., Плотников Ф.В. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии. Витебск: ВГМУ, 2017, 300 с.
2. Ильина Т.С. Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология 2021; 39 (2): 14-24.
3. Jose Luis Del Pozo. Biofilm-related disease. Expert Rev Anti Infect. 2018; 16 (1): 51-65.
4. Jing Yan, Surviving as a Community: Antibiotic Tolerance and Persistence in Bacterial Biofilms. Cell Host Microbe 2019; 26 (1): 15-21.
5. Clayton W Hall. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. Microbiol Rev. 2017; 41 (3): 276-301.
6. Припутневич Т.В., Зубков В.В., Трофимов Д.Ю., и др. Эволюция технологий в микробиологии - ключ к формированию

новых возможностей надзора и профилактики инфекций в родовспоможении. Вестник Российской академии медицинских наук. 2019; 74 (6): 364-370. doi: 10.15690/vtamn1198.

7. Окулич В.К., Плотников Ф.В., Кабанова А.А. и др. Программа bactoSTREP: св-во о регистрации компьютерной программы №954 Респ. Беларусь, заявл. 06.06.2017 [Электронный ресурс]. Режим доступа [http://belgopatent.by/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1028&Itemid=74](http://belgopatent.by/index.php?option=com_content&view=article&id=1028&Itemid=74). Дата доступа: 23.11.2017.
8. Определитель бактерий Берджи: пер. с англ. под ред. Дж. Хоулта и др. М.: Мир 1997, с. 180-196.
9. Vos P, Garrity G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Firmicutes Springer 2009; Vol. 3: 1450.
10. Фотт Н.П., Бравичева О.С. Обоснование использования кластерного анализа для видовой идентификации стафилококков. Вестник ОГУ 2002; 3: 132-134.

## Сведения об авторах

Окулич Виталий Константинович – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии Витебского государственного медицинского университета. E-mail: vokul@mail.ru.  
Пинчук Алина Николаевна – аспирант кафедры клинической микробиологии Витебского государственного медицинского университета. E-mail: alin.nik@mail.ru.  
Шилин Владимир Евгеньевич – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии Витебского государственного медицинского университета. E-mail: dajmler\_we@mail.ru.  
Колчанова Наталья Эдуардовна – к.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного медицинского университета. E-mail: natali.kolchanova777@gmail.com.  
Матусевич Евгений Анатольевич – к.м.н., главный врач УЗ «Витебская областная клиническая больница». E-mail: burat@km.ru.  
Лептеева Таисия Николаевна – аспирант кафедры клинической микробиологии Витебского государственного медицинского университета. E-mail: taisiyalepteeva@yandex.by.  
Коржова Анита Александровна – студентка 5 курса лечебного факультета Витебского государственного медицинского университета. E-mail: anitakorzova@gmail.com.

Поступила 7.02.2022 г.