

УДК 615.33:579

DOI: 10.14427/jipai.2026.2.40

Границы случайных колебаний результатов диско-диффузионного метода при оценке результатов тестирования чувствительности бактерий к антибиотикам

В.А. Матвеев¹, Т.Е. Скипор²¹ Витебский государственный медицинский университет, Витебск² Могилёвская областная детская больница, Могилёв

Limits of random variability in disk diffusion test results for assessing bacterial antibiotic susceptibility

V.A. Matveev¹, T.E. Skipor²¹ Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus² Mogilev Regional Children's Hospital, Mogilev, Belarus

Аннотация

Цель. Установить границы случайных колебаний результатов диско-диффузионного метода (ДДМ) при определении чувствительности бактерий к антибиотикам.

Материал и методы. Проведено 280 ДДМ тестов с контрольными культурами: E.coli ATCC 25922, Ps. aeruginosa ATCC 27853, St. aureus ATCC25923. В отношении Грам (-) бактерий исследовали активность 9, Грам (+) - 4 препаратов.

Результаты. Установлено, что как для Грам (-), так и Грам (+) контрольных культур, среднее квадратичное отклонение диаметров зон подавления бактериального роста при использовании всех АТБ составило менее 2: в среднем $1,64 \pm 0,05$ и $1,57 \pm 0,1$ соответственно. Распределение результатов во всех случаях было близким к нормальному. Пределы $\pm 2\sigma$, в рамках которых должны входить 95% получаемых результатов, в абсолютных цифрах составили чуть более ± 3 мм.

Заключение. Учитывая несовершенство методики измерений, за значимую величину изменения диаметра зоны подавления бактериального роста при проведении ДДМ целесообразно принять ≥ 4 мм.

Ключевые слова

Диско-диффузионный метод, границы случайных колебаний, Грам (-) и Грам (+) патогены.

Введение

Диско-диффузионный метод (ДДМ) является наиболее распространённым из способов определения чувствительности бактерий к антибиотикам (АТБ). Это связано с его относительной простотой, дешевизной, лёгкостью интерпретации результатов, а также нетребовательностью к обо-

Summary

Objective. To determine the control limits of random variation in the results of disk diffusion method (DDM) when assessing bacterial susceptibility to antibiotics.

Material and Methods. A total of 280 DDM tests were performed using Gram-negative and Gram-positive control strains: E. coli ATCC 25922, P. aeruginosa ATCC 27853, and Staphylococcus aureus ATCC 25923. Nine and four antibiotics were tested for Gram-negative and Gram-positive bacteria respectively.

Results. It was established that for both Gram (-) and Gram (+) control cultures, the mean square deviation of the diameters of bacterial growth inhibition zones when using all antibiotics was less than 2: 1.64 ± 0.05 and 1.57 ± 0.1 on average, respectively. In all cases the distribution of results was close to normal. The $\pm 2\sigma$ limits, within which 95% of the results are expected to fall, amounted to slightly more than ± 3 mm in absolute terms.

Conclusion. Considering the limitations of the measurement methodology, a change in the diameter of the bacterial growth inhibition zone of ≥ 4 mm should be regarded as significant when using the DDM.

Keywords

Disk diffusion method, limits of random variation, Gram-negative and Gram-positive pathogens.

рудованию и используемым реактивам. В то же время ДДМ не лишён и недостатков. Главным из них является нестабильность результатов, вследствие чего даже при тестировании контрольных штаммов наблюдается относительно высокий разброс получаемых значений [1,2]. Последнее связано с целым рядом обстоятельств, часть из

которых крайне сложно учесть и предупредить: неравномерная толщина агара, отличия в плотности бактериального посева на разных участках чашки, нестабильность содержания АТБ в отдельных дисках и ряд других [2,3]. В условиях обычной постановки это, если не выходит за определённые рамки, не является критичным [1]. Однако, в ряде случаев при проведении ДДМ необходимо знание точной границы, за пределами которой изменения результатов являются существенными, а не связаны со случайными флуктуациями. Решению указанной проблемы и было посвящено настоящее исследование.

Материал и методы

В ходе работы были проанализированы результаты тестов на чувствительность к АТБ контрольных культур Грам (-) и Грам (+) бактерий. В качестве первых использовали штамм *E. coli* ATCC 25922 и *Ps. aeruginosa* ATCC 27853, в качестве вторых – *St. aureus* ATCC25923. Данные брали в течение не менее чем за 2 периода одного года, во всех случаях колебаний результатов находились в пределах, допустимых регламентирующими документами [1,2].

Постановка ДДМ осуществлялась в классическом варианте без внесения в него каких-либо изменений или дополнений [1,2]. Всего проведено 280 тестов. Используемая культуральная среда – агар Мюллера-Хинтона, время инкубации – 18-24 часа при 35°C.

Все фактические данные для подтверждения правильности получаемых заключений и выводов обрабатывались статистически с использованием пакета программ Statistica 10.

Результаты

Полученные при тестировании контрольных культур данные и результаты их статистической обработки представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, диаметр зон подавления в зависимости от используемых культур и тестируемых АТБ значительно изменялся. При этом по всем группам как для Грам (-), так и Грам (+) патогенов σ полученных данных составила менее 2: в среднем $1,64 \pm 0,05$ и $1,57 \pm 0,1$ соответственно. Распределение результатов во всех случаях было близким к нормальному: p -value в тестах Шапиро-Уилка либо Колмогорова-Смирнова $> 0,05$ [5]. В подобных условиях 95% случайных

Таблица 1. Колебания размеров зон подавления роста контрольных бактериальных культур при использовании диско-диффузионного метода

Тестовая культура/ антибиотик/доза в диске	Средняя зона подавления/ число тестов, мм	CI 95%, мм	σ	Тест Шапиро-Уилка	95% интервал ($\pm 2\sigma$), мм
<i>E. coli</i> / ATCC 25922 ампициллин/сульбактам 10/10 мкг	$21,6 \pm 0,4$, n=15	20,7-22,5	1,55	0,9, $p=0,1$	$\pm 3,1$
<i>E. coli</i> / ATCC 25922 имипенем 10 мкг	$27,6 \pm 0,45$, n=15	27,6-29,6	1,72	0,92, $p=0,2$	$\pm 3,44$
<i>E. coli</i> / ATCC 25922 меропенем 10 мкг	$30,7 \pm 0,4$, n=15	29,8-31,6	1,63	0,91, $p=0,15$	$\pm 3,26$
<i>E. coli</i> / ATCC 25922 моксифлоксацин 5 мкг	$31,3 \pm 0,4$, n=15	30,3-32,2	1,67	0,92, $p=0,2$	$\pm 3,34$
<i>E. coli</i> / ATCC 25922 цефтазидим 10 мкг	$28,5 \pm 0,4$, n=15	27,6-29,4	1,54	0,94, $p=0,33$	$\pm 3,08$
<i>E. coli</i> / ATCC 25922 цефепим 30 мкг	$33,7 \pm 0,4$, n=15	32,8-34,5	1,59	0,91, $p=0,19$	$\pm 3,18$
<i>Ps. aeruginosa</i> / ATCC 27853 имипенем 10 мкг	$27,1 \pm 0,3$, n=15	26,4-27,7	1,22	$p > 0,2^*$	$\pm 2,44$
<i>Ps. aeruginosa</i> / ATCC 27853 меропенем 10 мкг	$30,0 \pm 0,5$, n=12	28,9-31,1	1,7	$p > 0,2^*$	$\pm 3,4$
<i>Ps. aeruginosa</i> / ATCC 27853 дорипенем 10 мкг	$31,8 \pm 0,34$, n=29	31,1-32,5	1,89	$p > 0,2^*$	$\pm 3,78$
<i>Ps. aeruginosa</i> / ATCC 27853 амикацин 30 мкг	$21,1 \pm 0,46$, n=15	20,2-22,1	1,77	0,91, $p=0,15$	$\pm 3,54$
<i>Ps. aeruginosa</i> / ATCC 27853 азтреонам 30 мкг	$25,8 \pm 0,32$, n=20	25,2-26,5	1,61	$p > 0,2^*$	$\pm 3,22$
<i>Ps. aeruginosa</i> / ATCC 27853 цефепим 30 мкг	$26,6 \pm 0,4$, n=15	25,7-27,5	1,55	0,93, $p=0,35$	$\pm 3,1$
<i>Ps. aeruginosa</i> / ATCC 27853 цефтазидим 10 мкг	$25,5 \pm 0,5$, n=15	24,4-26,6	1,92	0,94, $p=0,33$	$\pm 3,84$
ИТОГО Грам (-):			$1,64 \pm 0,05$		$\pm 3,28$
<i>St. aureus</i> ATCC25923 клиндамицин 2 мкг	$26,9 \pm 0,46$, n=13	25,9-27,9	1,65	$p > 0,2^*$	$\pm 3,3$
<i>St. aureus</i> ATCC25923 эритромицин 15 мкг	$27,0 \pm 0,4$, n=13	26,1-27,9	1,4	$p > 0,2^*$	$\pm 2,8$
<i>St. aureus</i> ATCC25923 цефокситин 30 мкг	$28,2 \pm 0,5$, n=14	27,1-29,3	1,84	$p > 0,2^*$	$\pm 3,68$
<i>St. aureus</i> ATCC25923 линезолид 10 мкг	$29,6 \pm 0,36$, n=14	28,8-30,4	1,4	$p < 0,1^*$	$\pm 2,8$
ИТОГО Грам (+):			$1,57 \pm 0,1$		$\pm 3,14$

* – тест Колмогорова-Смирнова

колебаний результатов должны находиться в пределах $\pm 2\sigma$, то есть в абсолютных цифрах это чуть более ± 3 мм.

Обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что границей принятия решения о существенности изменений зон подавления бактериального роста при проведении ДДМ может считаться величина, изменяющаяся в любую сторону более чем на 3 мм. Сходные данные приводят и другие исследователи. Так, Sakoulas G. et al. опирались именно на эту цифру при исследовании в тесте «последовательных двойных дисков» синергетической

активности комбинации цефазолин + эртапенем в отношении бактериемии, вызванной *St. aureus* [4]. Аналогичные границы для большинства штаммов в разделе, регламентирующем колебания размеров зон подавления роста контрольных бактериальных культур при проведении ДДМ, приводятся и в EUCAST [2].

Таким образом, колебания размеров зон подавления бактериального роста более ± 3 мм в ДДМ могут считаться значимыми и достаточными для формулирования соответствующих заключений. При этом, учитывая несовершенство методики измерений, за конкретную результативную величину целесообразно принять $\geq \pm 4$ мм.

Литература

1. Марейко А.М., Сероокая Т.И., Титов Л.П., и др. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: инструкция по применению. Минск, 2008. 83 с.
2. Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2024-02. МАКМАХ. СГМУ: Смоленск, 2024. 192 с.
3. Решедько Г.К., Стецюк У.О. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2001;3(4):348-354.
4. Sakoulas G, Olson J, Yim J, et al. Cefazolin and Ertapenem, a Synergistic Combination Used To Clear Persistent *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(11):6609–6618. doi:10.1128/AAC.01192-16.
5. Montgomery D.C. Introduction to Statistical Quality Control. 7th ed. Wiley, 2012. 754 p.

Сведения об авторах

Матвеев Владимир Аркадьевич – профессор кафедры педиатрии №2 с курсом ФПК и ПК Витебского государственного медицинского университета, д.м.н., профессор. E-mail: vladmat@mail.ru.
Скипор Татьяна Еремеевна – заведующий бактериологической лабораторией УЗ «Могилевская областная детская больница».

Поступила 17.04.2026.