

Факторы влияющие на оценку чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом

Новик-Пармон В.А.¹, Циркунова Ж.Ф.²

Младший научный сотрудник¹, заведующий лабораторией, к.б.н., доцент²
Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Беларусь
E-mail: karolinalovedeath@gmail.com

Актуальность. Устойчивость бактерий к противомикробным средствам стала серьезной угрозой общественному здравоохранению во всем мире. Следовательно, одной из самых важных задач микробиологических лабораторий является определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Эта задача является едва ли не самой трудоемкой и затратной процедурой в работе практических бактериологических лабораторий.

Для определения чувствительности микробов к антимикробным препаратам (АМП) могут использоваться различные методы. Достоверность получаемых результатов зависит от многих факторов: от качества питательных сред, реагентов, выбора метода исследования, соблюдения стандартной процедуры исследования и др. [1]. С момента появления в 1940 году диско-диффузионный метод (ДДМ) был и остаётся наиболее широко используемым рутинным тестом для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным средствам [2]. Данный метод является универсальным для широкого круга антибиотиков и не требует использования специального оборудования.

Цель: изучить влияние плотности бактериальной суспензии и толщины слоя агара на результат оценки чувствительности клинических изолятов *E.coli* к антибиотикам диско-диффузионным методом.

Материалы и методы. Объектами исследования явились клинические изоляты *E.coli* и эталонный штамм *E.coli* ATCC 11229. Бактерии культивировали на питательных средах: триптиказо-соевый бульон (HiMedia, Индия), триптиказо-соевый агар (HiMedia, Индия), агар Мюллера-Хинтон (HiMedia, Индия) при $35\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч. Видовую идентификацию и оценку чувствительности к антибиотикам бактериальных культур проводили с помощью автоматического анализатора Vitek2Compact (BioMérieux). Чувствительность бактерий к АМП проводили согласно [3]. В работе были использованы диски с антибиотиками НИЦФ: имипенем (10 мкг), гентамицин (10 мкг), цефокситин (30 мкг), цефепим (30 мкг), триметоприм-сульфаметоксазол (1,25-23,75 мкг).

Результаты и их обсуждение. Согласно рекомендациям МАКМАХ [3] при постановке ДДМ в работе следует использовать бактериальную суспензию (инокулюм) доведённый до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, что приблизительно соответствует нагрузке $1-2 \times 10^8$ КОЕ/мл (для *Escherichia coli*).

В результате проведённого исследования было установлено, что плотность суспензии *E.coli* ATCC 11229, соответствующая 10^3-10^6 КОЕ/мл, приводила к образованию зон

ингибирования роста не подлежащих измерению (очень больших); при использовании суспензии 10^7 - 10^9 КОЕ/мл результаты полностью укладывались в допустимые значения диаметров зоны подавления роста (мм) для контрольного штамма *Escherichia coli* ATCC 25922 (внутренний контроль качества), согласно [3].

Клинические изоляты *E.coli* 85/21 и *E.coli* 137/21 были предварительно проанализированы на чувствительность к АМП с использованием автоматического анализатора Vitek2Compact и было показано, что изолят *E.coli* 85/21 чувствителен ко всем взятым в опыт антибиотикам, в то время как *E.coli* 137/21 устойчив ко всем антибиотикам, за исключением имипенема.

В ходе исследований установлено, что изменение плотности суспензии с 10^8 КОЕ/мл до 10^7 КОЕ/мл или 10^9 КОЕ/мл приводило к изменению диаметров зон подавления роста протестированных штаммов бактерий вокруг дисков с АМП на 2-6 мм, а с 10^8 КОЕ/мл до 10^4 КОЕ/мл – до 10 мм. Установлена линейная зависимость диаметра зон ингибирования роста бактерий вокруг дисков от плотности бактериальной суспензии.

Следует отметить, что в условиях опыта, клинический изолят *E.coli* 85/21 сохранял свой чувствительный фенотип даже при увеличении плотности инокулята до 10^9 КОЕ/мл, а *E.coli* 137/21 – устойчивый фенотип к гентамицину, цефокситину, цефепиму и триметоприм-сульфаметоксазолу (даже при снижении плотности суспензии до 10^4 КОЕ/мл) и чувствительный – к имипенему.

Согласно требованиям, изложенным в [3], требуемая толщина слоя агара составляет $4 \pm 0,5$ мм (приблизительно 25 мл в круглую чашку диаметром 90 мм, 31 мл – в круглую чашку диаметром 100 мм, 71 мл – в круглую чашку диаметром 150 мм, 40 мл – в квадратную чашку размером 100x100 мм). Нами было исследовано, как данный параметр влияет на результат определения чувствительности бактерий к антибиотикам.

В условиях поставленного опыта использовались стерильные чашки Петри диаметром 90 мм с различным объемом питательной среды (от 15 мл до 35 мл). Диаметр зоны ингибирования бактериального роста вокруг диска с АМП менялся в диапазоне от +2 мм (чашка с минимальным объемом питательной среды) до -2 мм (чашка с максимальным объемом питательной среды).

Выводы. Полученные данные свидетельствуют, что несоблюдение правил приготовления бактериальной суспензии может привести к получению как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов и тем самым поставить под угрозу жизнь пациента.

Литература

- 1 Сухорукова М.В. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам: что стоит за результатом // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013, Том 15, № 3. – С.219-229.
- 2 Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods / I. Gajic [et al] // Antibiotics (Basel). – 2022. – Vol.11:427. doi: 10.3390/antibiotics11040427.
- 3 Рекомендации МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (2021)», версия 2021-01, год утверждения (частота пересмотра): 2021 // <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf>.

Уровни липидов крови и глюкозы натошак среди пациенток с желчнокаменной болезнью и сахарным диабетом 2 типа в сочетании с хроническим панкреатитом

Нотова Т.Е.^{1,2}, Григорьева И.Н.¹, Осипенко М.Ф.³, Венжина Ю.Ю.³, Чикинев Ю.В.³, Толстых Г.Н.², Суворова Т.С.³, Непомнящих Д.Л.³, Романова Т.И.¹

Соискатель ученой степени кандидата медицинских наук



**УПРАВЛЕНИЕ ДЕЛАМИ ПРЕЗИДЕНТА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЦЕНТРАЛЬНАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»**

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

Москва

16 апреля 2024 г.

**Москва
2024**

