

Janko Zupančič,
višji zdravstveni tehnik,
Inštitut za mikrobiologijo
medicinske fakultete, Ljubljana

Določanje garamicinove koncentracije v bolnikovem serumu

Današnja industrijska proizvodnja antibiotikov daje zdravnikom terapevtom vse večje število kakovostnih pripravkov, med katerimi zavzema garamicin, z generičnim imenom gentamicin, antibiotik širokega spektra amidoglikozidne skupine, posebno važno mesto. S svojim baktericidnim delovanjem, s hitro resorpcijo in znatnim persistiranjem v tkivih je garamicin pogosto antibiotik izbire za zdravljenje težkih bakterijskih infekcij, ki jih povzročajo po Gramu negativne kakor tudi po Gramu pozitivne bakterije. Zdravljenje z garamicinom pa bo uspešno le tedaj, če bomo v bolnikovem organizmu vzdrževali konstantno količino antibiotika, ki bo preprečevala razmnoževanje oziroma delovala baktericidno na povzročitelja infekcije. Najnižjo koncentracijo antibiotika, ki deluje bakteriostatično na določeni mikroorganizem, imenujemo minimalno inhibitorno koncentracijo (MIK). Uspešno zdravljenje lahko zagotovimo le, če in vivo vzdržujemo raven antibiotika nad minimalno inhibitorno koncentracijo. V ta namen pa je povzročitelju infekcije treba pred začetkom zdravljenja s pomočjo dilucijskega antibiograma določiti MIK garamicina.

Poudariti pa je potrebno, da garamicinova koncentracija nad 10 gama/ml, predvsem z daljšim učinkovanjem deluje nevro- in ototoksično. Posebno pozorni moramo biti med zdravljenjem bolnikov z okvarjeno ledvično funkcijo, pri katerih se garamicin v organizmu lahko kopiči. Pri tem pa je kontrolni test določanja garamicinove koncentracije velikega pomena. S kontrolnim testom lahko določimo maksimalne količine garamicina po resorpciji — običajno po 1 uri, minimalne količine pred ponovno aplikacijo garamicina, kumulativne količine pa po večkratnih aplikacijah ali kopičenju zaradi ledvične okvare.

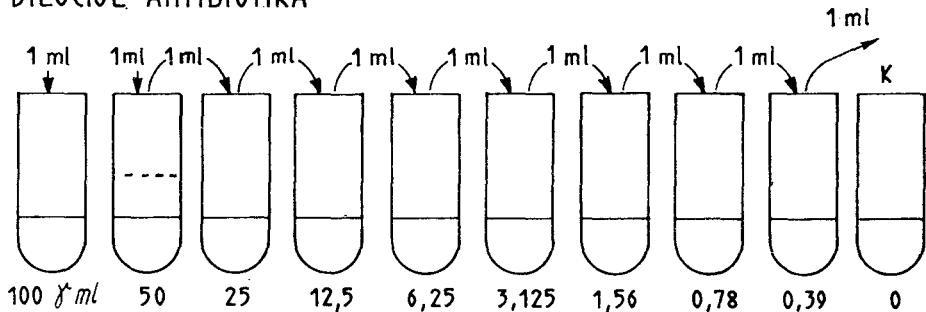
Material in metode

V inštitutu za mikrobiologijo medicinske fakultete v Ljubljani uporabljamo za določanje garamicinove koncentracije v serumu tehniko po Schlichterju, kot jo navajata Bailey in Scott (1966). Za določanje ravni garamicina lahko uporabimo različne materiale, kot npr. kri, likvor, urin itd., pod pogojem, da so aseptično odvzeti oziroma sterilni. Material, kot npr. urin, ki po svoji naravi ni steril, je pred izvedbo testa treba filtrirati skozi EK Seitzov filter.

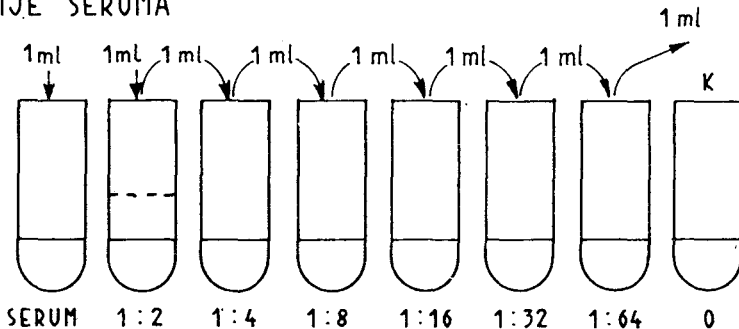
Za izvedbo testa vzamemo ca. 5 ml krvi brez antikoagulansa. Čimprej aseptično odlijemo serum in napravimo test. V sterilnih epruvetah pripravimo po 1 ml razredčenega seruma s sterilnim bujonom, in sicer: 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32, 1 : 64, prva epruveta pa vsebuje nerazredčen serum. Prirejenim serijam dvojne dilucije seruma dodamo po 0,05 ml 18—24 ur stare bujonske kulture povzročitelja bolezni ali katerega drugega mikroorganizma, občutljivega za nizke garamicinove koncentracije. Pri naših preiskavah smo za testni mikroorganizem uporabljali zelo občutljiv sev bakterijske vrste *Escherichia coli*. Kulturo je pred uporabo treba razredčiti na 1 : 1000 s sterilnim bujonom.

Paralelno z izdelavo testa glede na raven garamicina določamo z dilucijskim antibiogramom bakteriostatični učinek natančno določenih količin garamicina s pomočjo testnega mikroorganizma, ki smo ga uporabili za določanje garamicinove koncentracije v serumu. Za ta namen si pripravimo razredčenje garamicina z vsebnostjo 100 gama v ml. Za razredčevanje uporabljamo sterilni serum brez antibiotika. Druga razredčenja 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56, 0,78 in 0,39 gama garamicina v ml pa si priredimo z bujonom. Razredčenjem antibiotika v epruvetah po 1 ml in kontrolnih epruvetah, kjer je samo bujon, dodamo po 0,05 ml bujonske kulture *Escherichia coli*, ki jo razredčimo z bujonom 1 : 1000. Izdelan test nato inkubiramo v termostatu pri 37° C. Po 18- do 20-urni inkubaciji ugotavljamo bakteriostatično delovanje antibiotika. Največje razredčenje antibiotika, ki

a) DILUCIJE ANTIBIOTIKA

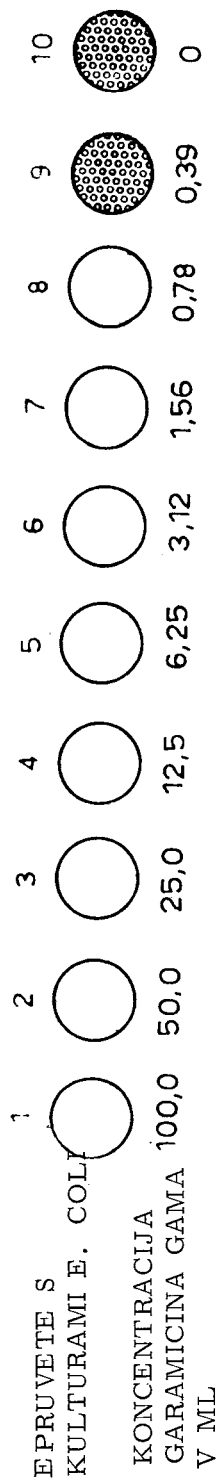


b) DILUCIJE SERUMA

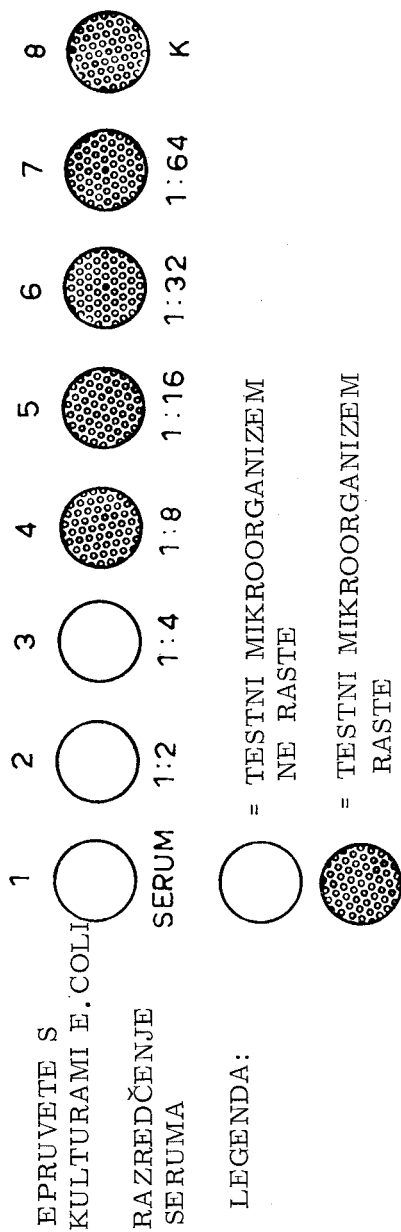


SKICA: I

I. VRSTA: DOLOČANJE MIK GARAMICINA Z DILUCIJSKIM TESTOM

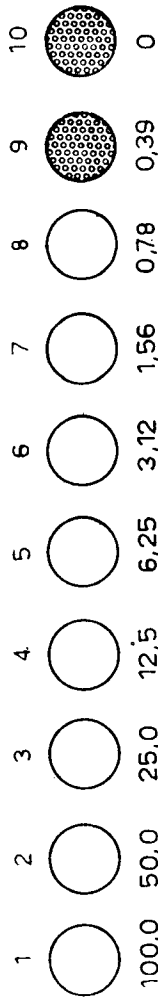


II. DOLOČANJE KONCENTRACIJE GARAMICINA V 1 ML SERUMA



IZRAČUN KONCENTRACIJE GARAMICINA V 1 ML SERUMA

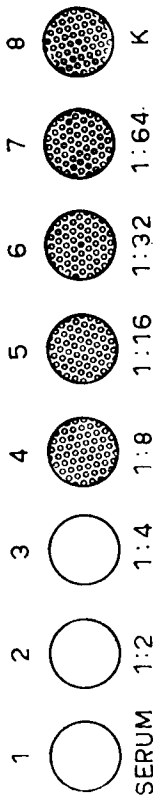
I. VRSTA EPRUVET




KONCENTRACIJA
GARAMICINA GAMA/ML

NAJVEČJE RAZREDČENJE GARAMICINA Z MIK V KOLIČINI 0,78 GAMA/ML
JE V 8. EPRUVETI DILUCIJSKEGA TESTA

II. VRSTA EPRUVET



RAZREDČENJE SERUMA

TESTNI MIKROORGANIZEM =  MINIMALNO INHIBITORNO KONCENTRACIJO (MIK) GARAMICINA
VSEBUJE 3 EPRUVETA Z RAZREDČENJEM SERUMA 1 : 4

TESTNI MIKROORGANIZEM = 

$\frac{0,78 \times 4}{3,12}$ KOLIČINA GARAMICINA V 1 ML SERUMA ZNAŠA 3,12 GAMA

prepreči rast testnemu mikroorganizmu, deluje bakteriostatski in vsebuje minimalno inhibitorno koncentracijo garamicina. Epruveta z največjim razredčenjem bolnikovega seruma, v kateri je bila inhibirana rast testnega mikroorganizma, vsebuje isto količino garamicina. Ta vzporeditev je osnova za izračunavanje garamicinove koncentracije v ml koncentriranega seruma po naslednji formuli:

količina antibiotika v gama/ml = MIK \times razredčenje seruma. Glej skice 1, 2, 3 s prikazom tehnike za izdelavo testa in izračunavanje količine garamicina.

Rezultati in zaključek

V obdobju od meseca aprila 1971 do konca maja 1974 smo v inštitutu pregledali skupaj 765 vzorcev seruma. Rezultate določitve garamicinove koncentracije prikazujeta naslednja tabela in diagram:

Količina garamicina gama/ml	Število vzorcev seruma	%
0 — 0,39	9	1,18
0,39 — 0,78	25	3,33
0,78 — 1,56	81	10,74
1,56 — 3,125	118	15,66
3,125 — 6,25	176	23,32
6,25 — 12,5	205	27,22
12,5 — 25,0	99	13,27
25,0 — 50,0	38	5,03
nad 50	2	0,25
Skupaj	753	100,0

Iz tabelarnega pregleda je mogoče ugotoviti, da je pri 139 vzorcih ali 18,8 % serumov ugotovljena garamicinova koncentracija v količini 12,5 gama/ml ali več, kar pomeni prekoračitev dovoljene količine. Pri skoraj 2/3 ali skupaj 499 vzorcih serumov je znašala koncentracija med 1,56—12,5 gama/ml, pri manjšem številu vzorcev pa so določene nizke koncentracije garamicina.

Poleg 753 vzorcev serumov, ki so prikazani v tabeli, smo vzeli v preiskavo tudi 12 vzorcev krvi od bolnikov, ki so se razen z garamicinom zdravili še z enim ali več drugimi antibiotiki. V teh serumih garamicinove koncentracije nismo določali zaradi prisotnosti drugih antibiotikov.

Literatura:

Banič S., Stropnik Z.: Neki problemi određivanja rezistencije stafilokoka prema penicilinu. Mikrobiologija 1,3 — 9, 1964.

Bailey W. R., Scott E. G.: Diagnostic microbiology. The C. V. Mosby Company, Saint Louis, 1966, str. 269.

Karakašević B. i saradnici: Priručnik standardnih metoda za mikrobiološki rutinski rad. 3 izdanje, Medicinska knjiga Beograd — Zagreb, 1967, str. 257—264.

Stropnik Z.: Bakterijska rezistenca za antibiotike. Zdravstveni vestnik, 36, 51—56, 1967.