



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Official Publication of the Brazilian Society of Anesthesiology
www.sba.com.br



ARTIGO CIENTÍFICO

Crescimento de bactérias em agentes de infusão: propofol 2% sustenta o crescimento, enquanto remifentanil e pantoprazol não

Ismail Aydın Erden^{a,*}, Dolunay Gülmez^b, Almila Gulsun Pamuk^a, Seda Banu Akinci^a, Gülşen Hasçelik^b e Ulkü Aypar^a

^a Departamento de Anestesiologia e Reanimação, Faculdade de Medicina, Hacettepe University, Ankara, Turquia

^b Departamento de Microbiologia Médica, Faculdade de Medicina, Hacettepe University, Ankara, Turquia

Recebido em 18 de setembro de 2012; aceito em 31 de outubro de 2012

PALAVRAS-CHAVE

Infecção nosocomial;
Propofol;
Remifentanil;
Pantoprazol;
Crescimento bacteriano

Resumo

Experiência e objetivos: Foram avaliados os riscos da contaminação de propofol 2%, remifentanil e pantoprazol e os efeitos desses agentes *in vitro* no crescimento de agentes infecciosos comuns em unidades de terapia intensiva.

Métodos: Para a detecção do risco de contaminação, foram testados agentes preparados para uso imediato em condições de unidade de terapia intensiva. Também foram investigados os efeitos desses três agentes no crescimento bacteriano. Os agentes foram preparados nas concentrações utilizadas na unidade de terapia intensiva e inoculados com patógenos comuns; em seguida, foram incubados a 4°C, 22°C e 36°C. Foram obtidas subculturas a 0, 2, 4 e 8 h e avaliadas as contagens de colônias. Foram determinados os valores de concentração inibitória mínima para todos os agentes a 4°C, 22°C e 36°C.

Resultados: Não foi observado crescimento nos agentes preparados na unidade de terapia intensiva. Propofol tendeu a suportar o crescimento, enquanto que remifentanil inibiu o crescimento bacteriano. O efeito de pantoprazol foi variável, dependendo com a bactéria testada. Nenhum dos agentes demonstrou atividade antibacteriana nas concentrações máximas que podem ser alcançadas no sangue dos pacientes.

Conclusão: Propofol sustenta vigorosamente o crescimento dos microrganismos testados, o que não ocorre com remifentanil e pantoprazol. Portanto, é importante que sejam praticadas técnicas assépticas rígidas na preparação de propofol.

© 2013 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

* Autor para correspondência.

E-mail: aydinerden@yahoo.com (I.A. Erden).

Introdução

Infecções nosocomiais nas unidades de terapia intensiva (UTIs) aumentam significativamente os percentuais de morbidade e mortalidade e os custos financeiros.^{1,2} Embora as UTIs detenham aproximadamente 10% ou menos dos leitos hospitalares, mais de 20% de todas as infecções nosocomiais ocorrem em pacientes internados na UTI.³ Os agentes utilizados na UTI podem influenciar as infecções nosocomiais por seu efeito no crescimento bacteriano.⁴ Ampolas e seringas utilizadas podem sofrer contaminação em um ambiente muito atarefado.^{5,6} Têm sido publicados relatos esporádicos de bacteremia causada pela distribuição de agentes farmacológicos infectados. Foi demonstrado que protocolos simples de controle da infecção são eficazes em diferentes cenários hospitalares.^{7,8} Tipo de agente farmacológico e duração do uso podem também ser fatores importantes. Seria importante ter conhecimento das drogas com maior tendência de gerar risco de infecção, especialmente aquelas utilizadas para infusão prolongada, para que fossem estabelecidas normas e também para minimização dos riscos. No presente estudo, escolhemos três medicamentos de uso comum em pacientes criticamente enfermos e na UTI: propofol, remifentanil e pantoprazol. Propofol é conhecido como bom meio de crescimento para bactérias.⁹ Remifentanil e pantoprazol têm propriedades antibacterianas.^{9,10} Todos esses agentes são administrados por infusão prolongada.^{9,10} Já foram estudados os efeitos antibacterianos de propofol 1% e de remifentanil 1, 10 e 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.^{4,9} Contudo, ainda está por ser determinada a eficácia antibacteriana de propofol 2%, remifentanil 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e pantoprazol.

Os objetivos desse estudo foram avaliar os riscos de contaminação de propofol 2%, remifentanil e pantoprazol e investigar os efeitos *in vitro* desses agentes no crescimento de microrganismos sabidamente causadores de infecção em unidades de terapia intensiva.

Materiais e métodos

Foi avaliado o efeito antimicrobiano de três agentes anestésicos, propofol 2% (1.g.50.mL⁻¹ Fresenius Kabi, Alemanha), remifentanil (2 mg, GlaxoSmithKline, Itália) e pantoprazol (40 mg, Altana Pharma, Alemanha). Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Investigação do risco de contaminação

Todos os três agentes foram preparados para uso em condições de UTI de acordo com os protocolos adotados na UTI para preparação de medicamentos iv para os pacientes, tendo sido depositados em dois injetores distintos, conforme descrição.¹¹ Como controle, uma solução de NaCl 0,85% também foi depositada em dois injetores. Um dos injetores foi incubado à temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e o outro foi colocado na geladeira ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) da UTI; uma alíquota de 100 μl dos agentes incubados foi cultivada em ágar de Colúmbia com sangue de ovelha (Becton Dickinson, Alemanha) após 0, 2, 4 e 8 h. As placas foram avaliadas em seguida a uma incubação noturna a $36 \pm 2^\circ\text{C}$. No caso de

qualquer crescimento bacteriano, foram efetuadas contagens de colônias.

Efeito no crescimento bacteriano

Para o estudo, foram selecionadas bactérias frequentemente causadoras de infecções nosocomiais e que pertencem à flora normal da pele. Escolhemos *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e um isolado clínico de um *Acinetobacter* spp resistente a múltiplos fármacos.

Efeito dos agentes farmacológicos nas concentrações usadas na UTI sobre o crescimento bacteriano

Nessa etapa do estudo, o método utilizado é uma modificação dos estudos de Batai et al.¹² e Wu et al.¹³ Todos os três agentes foram preparados para uso em condições de UTI e distribuídos em três conjuntos de tubos estéreis (1 mL por tubo). Também foram preparados três conjuntos de NaCl 0,85% estéril. Cada conjunto consistia de 7 tubos, com inclusão de todas as bactérias a serem testadas, juntamente com um tubo para controle. As soluções bacterianas foram preparadas em MacFarland 0,5 e diluídas em 1/1000.¹⁴ Todos os tubos, exceto os tubos de controle, foram inoculados com 50 μL de soluções bacterianas. Não houve nenhuma adição de bactérias aos tubos de controle. O primeiro conjunto de tubos foi incubado a $4 \pm 2^\circ\text{C}$, o segundo a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e o terceiro a $36 \pm 2^\circ\text{C}$. Os agentes farmacológicos incubados foram diluídos em 1/100, e 100 μL das diluições foram subcultivados em ágar de Colúmbia com sangue de ovelha após 0, 2, 4 e 8 h. As placas foram avaliadas em seguida a uma incubação noturna a $36 \pm 2^\circ\text{C}$. No caso de qualquer crescimento bacteriano, foram efetuadas contagens de colônias.

Determinação das concentrações inibitórias mínimas dos agentes farmacológicos

Estudamos os valores para concentração inibitória mínima (CIM) de todos os três agentes e da solução de NaCl 0,85% pelo método de microdiluição.¹⁴ A microdiluição foi efetuada em três temperaturas diferentes, $4 \pm 2^\circ\text{C}$, $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e $36 \pm 2^\circ\text{C}$. Para todas as bactérias, utilizamos caldo de Mueller Hinton cátion-ajustado (Oxoid Ltd., Inglaterra). As concentrações a serem testadas foram selecionadas em conformidade com as concentrações máximas dos agentes no sangue dos pacientes, por ocasião da administração.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o programa SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL). Aplicamos o teste de Kolmogorow-Simirnov para uma amostra para determinar se os dados tinham distribuição normal. Para as contagens de colônias, aplicamos ANOVA para comparar quatro grupos de agentes farmacológicos. Utilizamos o teste t para duas amostras independentes para comparar o agente estudado com salina normal, ou dois agentes diferentes entre si. Analisamos as contagens de colônias em diferentes pontos cronológicos

com o uso de ANOVA para medidas repetidas. Salvo indicação em contrário, os dados foram apresentados como média \pm desvio-padrão (DP).

Resultados

Investigação do risco de contaminação:

Na primeira etapa do estudo, não foi observado crescimento nas amostras preparadas prontas para uso na UTI e incubadas nas temperaturas escolhidas.

Efeito dos agentes farmacológicos nas concentrações usadas na UTI sobre o crescimento bacteriano

As figuras 1 a 6 ilustram respectivamente as contagens médias de colônias de *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. em seguida à exposição às soluções-teste.

Propofol sustentou o crescimento bacteriano. O crescimento bacteriano aumentou ou permaneceu o mesmo para todas as bactérias em todas as temperaturas (figs. 1-6). A figura 7 ilustra o crescimento de *S.aureus* em propofol à temperatura ambiente.

Remifentanil inibiu o crescimento bacteriano; e a redução nas contagens bacterianas se tornou mais evidente na temperatura de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (figs. 1-6).

Pantoprazol não sustentou o crescimento bacteriano e, quando comparado com o achado na 0 hora, reduziu

significativamente ($p < 0,05$) as contagens bacterianas de *S. epidermidis* e *Acinetobacter* spp. em 8 horas a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ (figs. 1-6).

Determinação das concentrações inibitórias mínimas dos agentes farmacológicos

Os valores das CIMs ficaram acima das concentrações testadas para todas as combinações de agente farmacológico, microrganismo e temperatura. As CIMs foram $> 5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para propofol 2%, $> 500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para remifentanil e $> 10 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ para pantoprazol.

Discussão

Embora propofol seja um meio de cultura rico para bactérias,¹⁵ quando esse agente foi depositado em seringas estéreis imediatamente após a abertura das ampolas, não foi detectado crescimento depois de transcorridas 24 horas. Nossos dados são comparáveis àqueles obtidos em outras investigações. Warwick et al.¹⁶ sugeriram que propofol poderia ser utilizado com segurança em até 24 horas quando depositado em seringas estéreis. Outros autores sugeriram 72 horas.¹⁷ Webb et al. informaram contaminação de propofol em seringas, embora nenhuma tivesse causado infecção clínica.¹⁸ Contudo, em nosso estudo as contagens de colônias em seringas contaminadas alcançaram diferença significativa em 8 horas para *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. à temperatura de $36 \pm 2^\circ\text{C}$. As contagens bacterianas aumentaram com o passar do tempo, mesmo à temperatura ambiente (fig. 7). Nossos

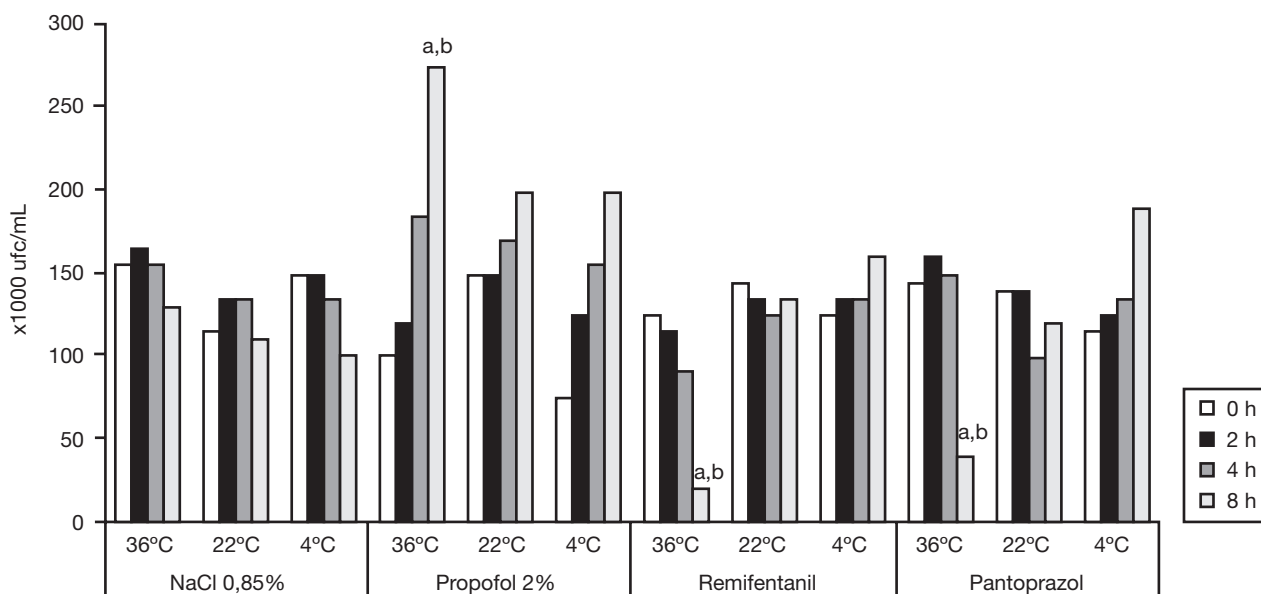


Figura 1 Contagens de colônias de *Staphylococcus aureus* nas soluções testadas. ^a Resultado significativamente diferente vs. início (0 h), $p < 0,05$. ^b Resultado significativamente diferente ($p < 0,05$) vs. NaCl 0,85%.

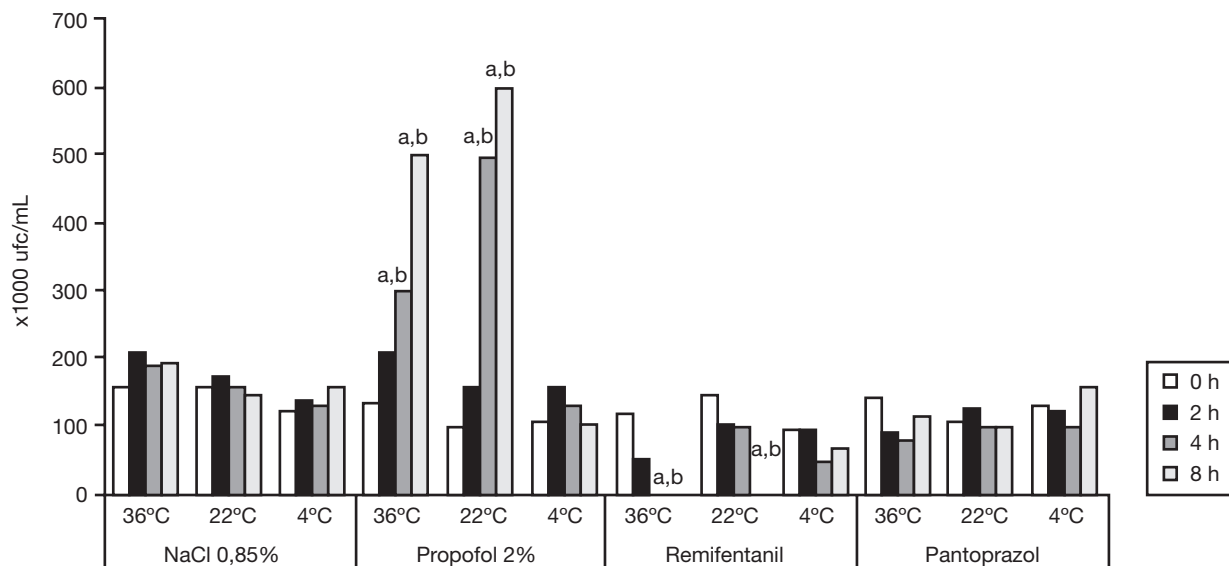


Figura 2 Contagens de colônias de *Enterococcus faecalis* nas soluções testadas. ^a Resultado significativamente diferente vs. início (0 h), $p < 0,05$. ^b Resultado significativamente diferente ($p < 0,05$) vs. NaCl 0,85%.

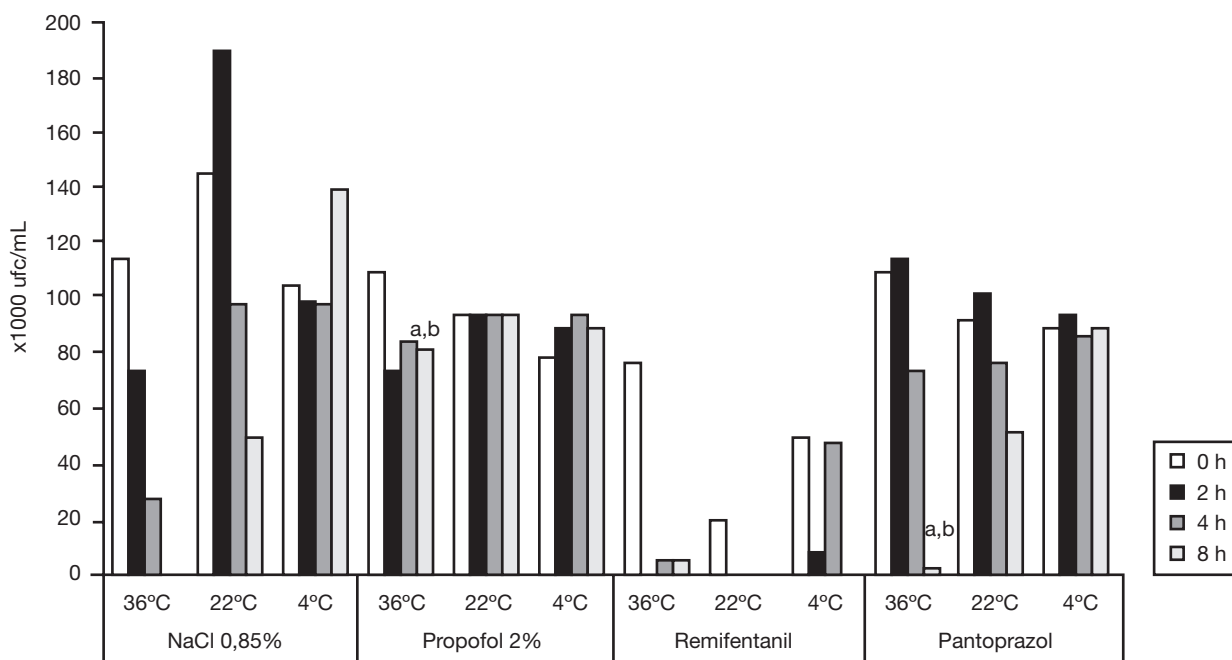


Figura 3 Contagens de colônias de *Staphylococcus epidermidis* nas soluções testadas. ^a Resultado significativamente diferente vs. início (0 h), $p < 0,05$. ^b Resultado significativamente diferente ($p < 0,05$) vs. NaCl 0,85%.

resultados foram parecidos com os de estudos precedentes demonstrando que propofol sustenta o rápido crescimento de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Moraxella osloensis*, *Acinetobacter* spp., *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* e *Candida albicans*, quando inoculadas *in vitro*.^{19,20} Esses achados corroboram a importância da adoção de técnicas assépticas rígidas. Líquidos e medicamentos podem ficar contaminados por microrganismos durante a produção

e/ou preparação para infusão. A má técnica asséptica pode ser comum entre profissionais da saúde, especialmente em um ambiente atarefado.^{21,22} A contaminação bacteriana de propofol pode ocorrer durante a abertura de ampolas de vidro, sendo baixa a adesão às recomendações das bulas para uso de propofol. Para escapar à contaminação bacteriana, deve-se passar álcool no colo da ampola; as mãos devem ser lavadas antes de qualquer manipulação; seringas

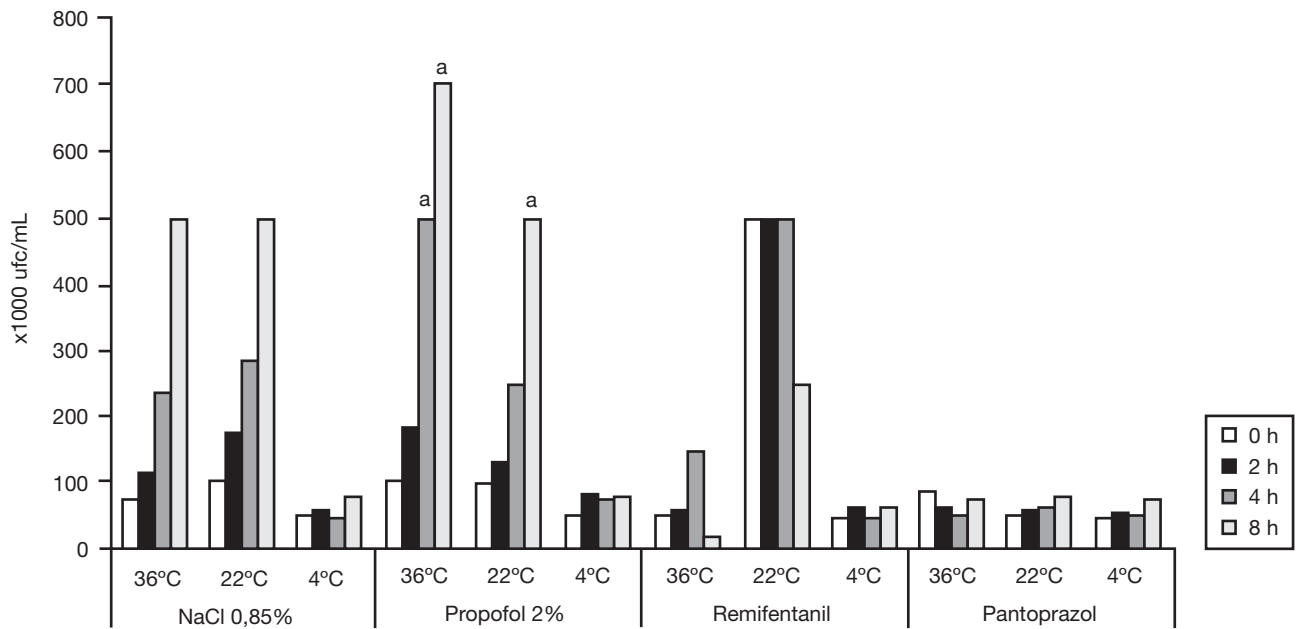


Figura 4 Contagens de colônias de *Escherichia coli* nas soluções testadas. ^a Resultado significativamente diferente vs. início (0 h), $p < 0,05$.

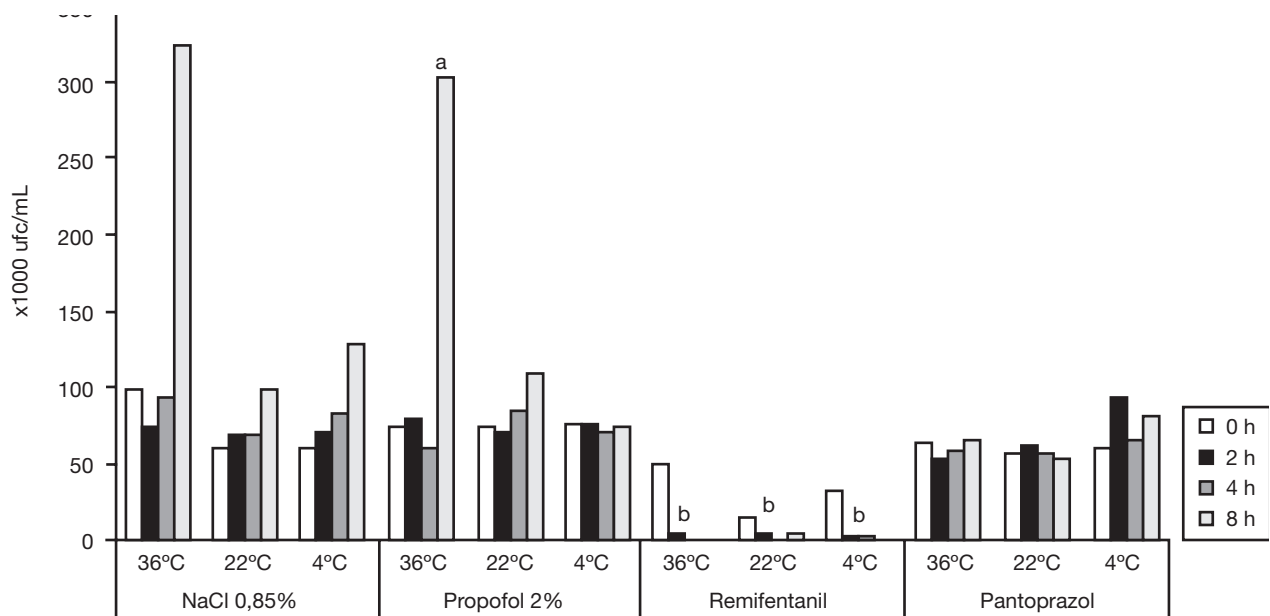


Figura 5 Contagens de colônias de *Pseudomonas aeruginosa* nas soluções testadas. ^a Resultado significativamente diferente vs. início (0 h), $p < 0,05$. ^b Resultado significativamente diferente ($p < 0,05$) vs. NaCl 0,85%.

e bombas devem ser preparadas em condições assépticas imediatamente antes do uso de propofol; ampolas e seringas devem ser rotuladas com data e hora da preparação; propofol deve ser depositado na seringa em quantidades que possam ser utilizadas de uma só vez e os resíduos, caso haja, devem ser descartados; e finalmente, os dispositivos descartáveis, como seringas, equipos de infusão e dispositivos de distribuição triplos devem ser utilizados apenas num

mesmo paciente.²³⁻²⁵ Contudo, em nosso estudo os colos das ampolas não foram higienizados com nenhum tipo de desinfetante, para que fossem reproduzidas as condições da rotina cotidiana; mas foram seguidas as demais recomendações. Nossos resultados acompanham as recomendações do fabricante - que propofol deve ser utilizado dentro de 6 horas de seu manuseio e que devem ser empregadas técnicas assépticas no manuseio e na administração de propofol.

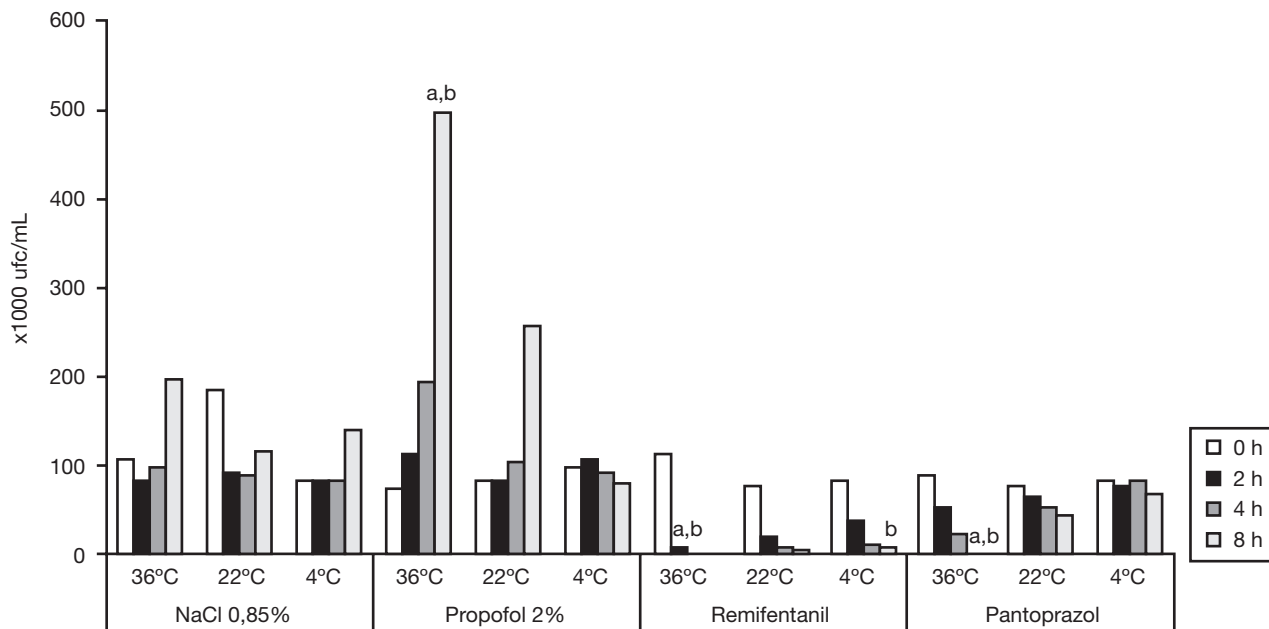


Figura 6 Contagens de colônias de *Acinetobacter* spp. nas soluções testadas. ^a Resultado significativamente diferente vs. início (0 h), $p < 0,05$. ^b Resultado significativamente diferente ($p < 0,05$) vs. NaCl 0,85%.

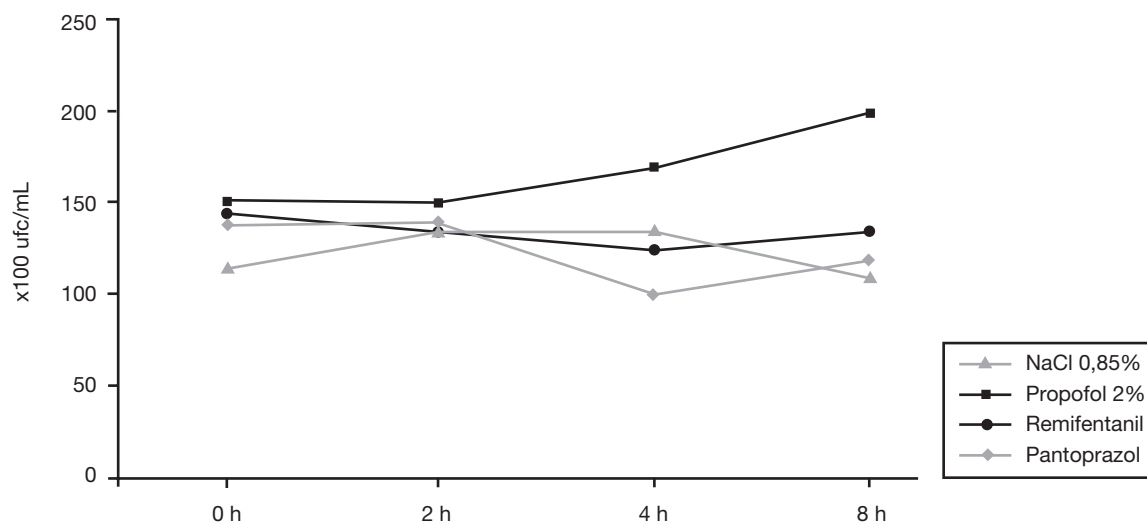


Figura 7 Crescimento de *S. aureus* em seringas contaminadas na temperatura ambiente.

Se propofol não for utilizado dentro do limite de tempo recomendado, até mesmo traços de contaminação do agente representarão risco de agressão bacteriana significativa para o paciente.²⁶

Por outro lado, a temperatura teve impacto nos percentuais de crescimento em propofol contaminado. Crowther et al.²⁵ informaram que temperaturas mais baixas podem reduzir o crescimento de *S. aureus*. Analogamente, nossos resultados demonstraram aumento no crescimento de *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* e *Acinetobacter* spp. em uma temperatura mais alta. Contudo, as contagens de colônias aumentaram mesmo à temperatura de $4 \pm 2^\circ\text{C}$, sugerindo

que, caso ocorra contaminação, temperatura não é garantia de segurança.

Quando remifentanil foi testado, a atividade antimicrobiana ficou mais evidente para *S. aureus* e *Acinetobacter* spp. As estirpes de *E. coli* pareciam ser mais resistentes ao efeito antimicrobiano de remifentanil, corroborando os resultados de Apan et al.⁹ Esses autores informaram que o efeito antibacteriano de remifentanil dependia da concentração. As concentrações utilizadas por Apan e seus colaboradores foram 1, 10 e $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, enquanto que a nossa foi $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. A concentração de remifentanil por nós estudada foi a concentração clinicamente utilizada em nossa UTI.

Tendo em vista que bactérias são afetadas pelo pH do medicamento e também que a maioria das bactérias patogênicas prefere uma faixa estreita de pH (6,0-8,0),²⁵ as propriedades bactericidas de remifentanil poderiam decorrentes de seu baixo pH. Em nosso estudo, o pH de remifentanil foi 2,1, valor muito mais baixo que o de propofol (pH = 6,35) e pantoprazol (pH = 7,68). Os padrões de crescimento de *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 ou *P. aeruginosa* ATCC 27853 não foram afetados por pHs entre 5,0-8,0.²⁷ Além disso, remifentanil contém glicina como preservativo, o que aumenta a duração da atividade antimicrobiana.²⁸ A presença de glicina pode ter contribuído para a atividade antibacteriana de remifentanil.

Na UTI, pantoprazol é amplamente utilizado no tratamento de diversas doenças gastrintestinais. Suerbaum et al.²⁹ informaram que pantoprazol tem potente atividade antibacteriana *in vitro* contra *Helicobacter pylori*. Foi proposto que o mecanismo do efeito antibacteriano contra *H. pylori* seria a interação entre as proteínas bacterianas, via formação de sulfonamida. Esse mecanismo poderia ser a explicação do efeito antibacteriano de pantoprazol contra *S. epidermidis* e *Acinetobacter* spp. em nosso estudo; mas isso ainda está por ser determinado.

O principal achado de nosso estudo é que propofol sustenta vigorosamente o crescimento dos microrganismos testados, o que não ocorre com remifentanil e pantoprazol. Para que sejam evitadas complicações decorrentes do crescimento bacteriano em propofol contaminado que coloquem em risco a vida dos pacientes, é importante que sejam seguidas técnicas assépticas rígidas para a preparação desse agente farmacológico. Futuros estudos deverão também avaliar os efeitos de medicamentos contaminados administrados por infusão no desenvolvimento de bactéria em pacientes.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Warren DK, Shukla SJ, Olsen MA, et al. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center. *Crit Care Med.* 2003;31:1312-7.
- Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:867-903.
- Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infect Dis Clin North Am.* 1997;11:479-96.
- Batai I, Kerényi M, Tekeres M. The impact of drugs used in anaesthesia on bacteria. *Eur J Anaesthesiol.* 1999;16:425-40.
- Lessard MR, Trepanier CA, Gourdeau M, et al. A microbiological study of the contamination of the syringes used in anaesthesia practice. *Can J Anaesth.* 1988;35:567-9.
- Van Grafhorst JP, Foudraïne NA, Nootboom F, et al. Unexpected high risk of contamination with staphylococci species attributable to standard preparation of syringes for continuous intravenous drug administration in a simulation model in intensive care units. *Crit Care Med.* 2002;30:833-6.
- Özkurt Z, Altoparlak Ü, İba Yılmaz S, et al. Reducing hospital infection rates in the burn unit by adherence to infection control measures: a six-year experience. *Turk J Med Sci.* 2012;42:17-24.
- Geyik MF, Hoşoğlu S, Ayaz C, et al. Surveillance of Nosocomial infections in dicle university hospital: a ten-year experience. *Turk J Med Sci.* 2008;38:587-93.
- Apan TZ, Apan A, Sahin S, et al. Antibacterial activity of remifentanil and mixtures of remifentanil and propofol. *J Clin Anesth.* 2007;19:346-50.
- Nakao M, Malfertheiner P. Growth inhibitory and bactericidal activities of lansoprazole compared with those of omeprazole and pantoprazole against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter.* 1998;3:21-7.
- Aydın N, Gultekin B, Ozgun S, et al. Bacterial contamination of propofol: the effects of temperature and lidocaine. *Eur J Anaesthesiol.* 2002;19:455-8.
- Batai I, Kerényi M, Tekeres M. The growth of bacteria in intravenous glyceryl trinitrate and in sodium nitroprusside. *Anesth Analg.* 1999;89:1570-2.
- Wu C, Engler C, Norton R. Growth of *Staphylococcus epidermidis* in anaesthetic resuscitative drugs: implications for potential contamination. *Anaesth Intensive Care.* 2005;33:69-72.
- CLSI, Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. 7th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2006.
- Graystone S, Wells MF, Farrell DJ. Do intensive care drug infusions support microbial growth? *Anaesth Intensive Care.* 1997;25:640-2.
- Warwick JP, Blake D. Drawing up propofol. *Anaesthesia.* 1994;49:172.
- Soong WA. Bacterial contamination of propofol in the operating theatre. *Anaesth Intensive Care.* 1999;27:493-6.
- Webb SA, Roberts B, Breheny FX, et al. Contamination of propofol infusions in the intensive care unit: incidence and clinical significance. *Anaesth Intensive Care.* 1998;26:162-4.
- Sakuragi T, Yanagisawa K, Shirai Y, et al. Growth of *Escherichia coli* in propofol, lidocaine, and mixtures of propofol and lidocaine. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1999;43:476-9.
- Harvey BR, Ganzberg S. Growth of microorganisms in propofol and methohexital mixtures. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61:818-23.
- Howard DPJ, Williams J, Sen S, et al. A simple effective clean practice protocol significantly improves hand decontamination and infection control measures in the acute surgical setting. *Infection.* 2009;37:34-8.
- Harrison CA, Rogers DW, Rosen M. Blood contamination of anaesthetic and related staff. *Anaesthesia.* 1990;45:831-3.
- Zacher AN, Zornow MH, Evans G. Drug contamination from opening glass ampules. *Anesthesiology.* 1991;75:893-5.
- Wachowski I, Jolly DT, Hrazdil J, et al. The growth of microorganisms in propofol and mixtures of propofol and lidocaine. *Anesth Analg.* 1999;88:209-12.
- Crowther J, Hrazdil J, Jolly DT, et al. Growth of microorganisms in propofol, thiopental, and a 1:1 mixture of propofol and thiopental. *Anesth Analg.* 1996;82:475-8.
- Bennett SN, McNeil MM, Bland LA, et al. Postoperative infections traced to contamination of an intravenous anesthetic, propofol. *N Engl J Med.* 1995;333:147-54.
- Gudmundsson A, Erlendsdottir H, Gottfredsson M, et al. Impact of pH and cationic supplementation on *in vitro* postantibiotic effect. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35:2617-24.
- Obayashi A, Oie S, Kamiya A. Microbial viability in preparations packaged for single use. *Biol Pharm Bull.* 2003;26:667-70.
- Suerbaum S, Leying H, Klemm K, et al. Antibacterial activity of pantoprazole and omeprazole against *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1991;10:92-3.