



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

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



ARTÍCULO CIENTÍFICO

Efectos antimicrobianos de la cetamina en combinación con el propofol: un estudio *in vitro*☆

Zekine Begec^a, Aytac Yucel^a, Yusuf Yakupogullari^b, Mehmet Ali Erdogan^{a,*}, Yucel Duman^b, Mahmut Durmus^a, M. Ozcan Ersoy^a

^a Departamento de Anestesiología y Reanimación, Facultad de Medicina, Inonu University, Malatya, Turquía

^b Departamento de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Inonu University, Malatya, Turquía

Recibido el 9 de agosto de 2012; aceptado el 3 de septiembre de 2012

DESCRIPTORES

Actividad antimicrobiana;
Cloruro de benzetonio;
Cetamina;
Cetofol;
Propofol

Resumen

Experiencia y objetivos: La Cetamina y el propofol son los anestésicos generales que también tienen efectos antimicrobianos y son los promotores del crecimiento microbiano, respectivamente. Aunque esos agentes sean frecuentemente aplicados en combinación durante el uso clínico, no hay datos sobre su efecto total en el crecimiento microbiano en la administración combinada. En ese estudio, investigamos el crecimiento de algunos microorganismos en una mezcla de cetamina y propofol.

Método: En este estudio, utilizamos cepas estandarizadas: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Realizamos un análisis de tiempo-crecimiento para evaluar las tasas de crecimiento microbiano en el propofol al 1%. La actividad antimicrobiana de cetamina, aisladamente y en propofol, fue estudiada por el método de microdilución.

Resultados: En el propofol, las cepas estudiadas crecieron de concentraciones de 10^3 - 10^4 ufc/mL para $\# > 10^5$ ufc/mL, dentro de 8-16 horas, dependiendo del tipo de microorganismo. Fueron determinadas la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) (para *Candida*, concentración fungicida mínima) de cetamina, como vemos (CIM, CBM): *E. coli* 312,5, 312,5 µg/mL; *S. aureus* 19,5, 156 µg/mL; *P. aeruginosa* 312,5, 625 µg/mL; y *C. albicans* 156, 156 µg/mL. En la mezcla cetamina + propofol, la cetamina mostró una actividad antimicrobiana para *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* en CBMs a 1250, 625 y 625 µg/mL, respectivamente. El crecimiento de *S. aureus* no se inhibió en esa mezcla (concentración de cetamina = 1250 µg/mL).

Conclusiones: La cetamina preservó su actividad antimicrobiana de manera dosis-dependiente contra algunos microorganismos en propofol, que es una robusta solución que promueve el crecimiento microbiano. El uso combinado de cetamina y propofol en la aplicación clínica

☆Estudio realizado en la Facultad de Medicina, Universidad Inonu, Malatya, Turquía.

* Autor para correspondencia.

E-mail: drmalierdogan@gmail.com (M.A. Erdogan).

de rutina puede disminuir el riesgo de infección causada por la contaminación accidental. Sin embargo, debemos tener presente que la cetamina no puede reducir todas las amenazas patógenas en la mezcla con el propofol.

© 2013 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos los derechos reservados.

Introducción

El Propofol es un agente sedativo-hipnótico de amplio uso. Se administra en la inducción y en el mantenimiento de la anestesia. El Propofol está considerado como un buen agente promotor del crecimiento microbiano, debido a su rico contenido nutricional, por ejemplo, aceite de soja, glicerol y lecitina de huevo.^{1,2} Como consecuencia, han sido descritas infecciones graves en pacientes después del uso de propofol contaminado.^{3,4}

La cetamina es un anestésico general con efecto antagónico en los receptores de n-metil d-aspartato. Ese agente se caracteriza por el rápido inicio de sus acciones: analgesia, anestesia, elevación de la presión arterial y dilatación en las vías aéreas inferiores. Considerando sus efectos favorables en el sistema cardiovascular y pulmonar, la cetamina puede ser particularmente importante para la inducción de la anestesia en un paciente hipovolémico.^{5,6} Además de eso, algunos estudios documentaron la actividad antimicrobiana de cetamina.^{7,8}

Quedó demostrado que la combinación de cetamina y propofol (cetofol) es farmacéuticamente compatible, cuando se aplica en la misma jeringuilla. Varios estudios informaron que el cetofol posee una actividad reguladora positiva en los parámetros hemodinámicos en voluntarios humanos.⁹⁻¹¹ Respecto del gran efecto promotor del crecimiento microbiano del propofol y de la actividad antimicrobiana de la cetamina, fue considerada como válida la investigación del efecto total de su combinación en el crecimiento de algunas bacterias y hongos. Por tanto, realizamos un estudio *in vitro* para determinar el efecto de la mezcla de esos agentes (i.e., cetofol) en algunos microorganismos clínicamente importantes, que constituyen los patógenos significativos de las infecciones hospitalarias en el mundo.

Materiales y métodos

Agentes farmacológicos y microorganismos

En el presente estudio, usamos cetamina (Ketalar® 50 mg/mL, Pfizer), y propofol al 1% (Propofol® 1%, Fresenius). Las mezclas de los agentes fueron preparadas en condiciones asépticas.

En ese estudio, utilizamos las siguientes cepas estandarizadas: *Escherichia coli* (ATCC 25922) (RSHM/Turquía), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) (Oxoid/Inglaterra), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) (Oxoid/Inglaterra) y *Candida albicans* (ATCC 14053) (Oxoid/Inglaterra).

Actividad promotora del crecimiento microbiano del propofol

Estudiamos las tasas de crecimiento de los microorganismos testados en análisis de tiempo-crecimiento. Resumidamente, seleccionamos colonias bacterianas y fúngicas crecidas en placas de agar nutriente y suspendidas en salina fisiológica al 0,9% estéril en densidad al 0,5 de McFarland. Esas suspensiones fueron nuevamente suspendidas en propofol para el ajuste de la concentración final de los microorganismos para $1-2 \times 10^4$ bacterias por mL y $4-5 \times 10^3$ hongos por mL. Incubamos esas suspensiones a 35°C durante 24 horas. En períodos de 2 horas, fueron hechas sub-cultivos para medios de agar nutriente entre 0 y 24 horas. Hicimos la lectura visual del número de unidades formadoras de colonia (ufc/mL) crecidas en las placas, por solamente un investigador.

Actividad antimicrobiana de la cetamina

Investigamos el impacto de la cetamina, aisladamente y en la mezcla con el propofol, en las velocidades de crecimiento microbiano de cada microorganismo con el método de microdilución, en conformidad con las normas publicadas para test de sensibilidad antimicrobiana por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)^{12,13} y de acuerdo con el estudio previamente publicado por Gocmen et al.⁷ Adoptamos la concentración de cetamina que estaba asociada con la inhibición del 100% del crecimiento de hongos como el valor de CIM para *C. albicans*.

Actividad antimicrobiana de la cetamina en los test de rutina

Resumidamente, diluimos en series la cetamina en placas de cultivo estériles de poliestireno con 96 pozos. A continuación, preparamos las suspensiones bacterianas y fúngicas en salina fisiológica al 0,9% estéril en la densidad 0,5 de McFarland. Suspendimos nuevamente esas suspensiones en sus caldos de rutina. Distribuimos un volumen de 100 µL de inóculos en cada pozo. Las concentraciones finales de cetamina variaron de 1250 hasta 1,22 µg.mL⁻¹ en los pozos conteniendo $2,5-5 \times 10^4$ ufc.mL⁻¹ inóculos de bacterias, o $1-5 \times 10^3$ ufc.mL⁻¹ inóculos de *Candida*. Después de incubar durante 24 h a 35°C, determinamos las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) por lectura visual. Para la cepa de *Candida*, adoptamos la inhibición del 100% como el valor para CIM con respecto al control de los inóculos exentos de fármaco. Determinamos las concentraciones bactericidas mínimas (CBMs) (para *Candida*, concentración fungicida mínima); y para tanto hicimos

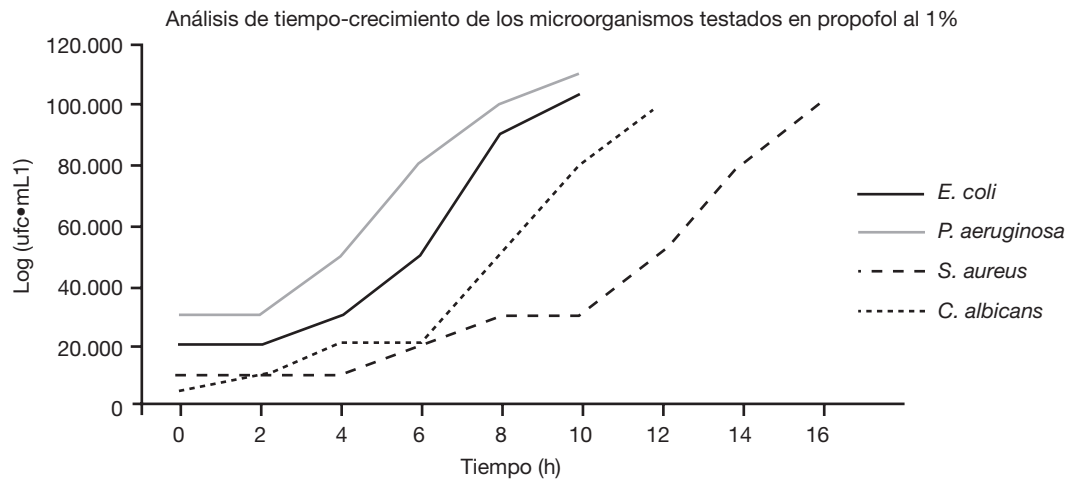


Figura 1 Curvas de crecimiento de los microorganismos en la solución de propofol 1% en períodos de 2 h.

Tabla 1 Valores para CIMs y CBMs de cetamina (aisladamente) y en la mezcla con el propofol para los microorganismos estudiados

Microorganismos	Cetamina		Cetamina + propofol
	CIMs ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	CBMs ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	CBMs ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
<i>E. coli</i>	312,5	312,5	1.250
<i>S. aureus</i>	19,5	156	> 1.250
<i>P. aeruginosa</i>	312,5	625	625
<i>C. albicans</i>	156	156	625*

*Concentración fungicida mínima.

subcultivos de los pozos exhibiendo una inhibición de crecimiento bacteriano o fúngico visible para los medios de agar nutriente apropiados. Adoptamos como CBM la concentración de los agentes en el pozo que hubiese causado la inhibición del 99,9% de la cepa testada. Preparamos cultivos de control para los microorganismos, caldo y solución de los agentes farmacológicos.

Actividad antimicrobiana de la cetamina en el propofol

Hicimos una dilución seriada de cetamina en una solución de propofol en placas estériles de poliestireno con 96 pozos. Las suspensiones bacterianas y fúngicas preparadas en salina fisiológica al 0,9% estéril en densidad de 0,5 de McFarland fueron suspendidas nuevamente en propofol y distribuidas en cada pozo en cuotas iguales. Las concentraciones finales de cetamina variaron de 1250 hasta 1,22 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en los pozos conteniendo $2,5\text{-}5 \times 10^4$ ufc. mL^{-1} inóculos de bacterias, o $1\text{-}5 \times 10^3$ ufc. mL^{-1} inóculos de *Candida*. Después de la incubación durante 24 h a 35°C, determinamos CBMs haciendo sub-cultivos de los pozos en los medios agar apropiados, conforme a lo descrito anteriormente. Hicimos cultivos de control para microorganismos, propofol y solución de los agentes farmacológicos.

Resultados

Crecimiento microbiano en el propofol al 1%

La figura 1 ilustra las velocidades de crecimiento de las cepas testadas en suspensión del propofol al 1%. En las primeras 2 horas de la incubación, no detectamos crecimiento significativo de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, en comparación con el tiempo cero. Pero la concentración de *C. albicans* duplicó (de 5×10^3 ufc. mL^{-1} para 1×10^4 ufc. mL^{-1}) en el mismo intervalo de tiempo. *E. coli* y *P. aeruginosa* llegaron a una concentración $\# > 1 \times 10^5$ ufc. mL^{-1} en la 10^a y 8^a hora de incubación; *C. albicans* en la 14^a hora y *S. aureus* en la 16^a hora.

Actividad antimicrobiana de la cetamina en los testes de rutina y en la mezcla con el propofol

La cetamina ha demostrado tener un efecto antimicrobiano *in vitro* contra todas las cepas testadas en test de sensibilidad antimicrobiana de rutina. Determinamos la CIM más baja de cetamina para *S. aureus*: 19,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; y medimos la CIM más elevada para *E. coli* y *P. aeruginosa*: 312,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Con relación a las CBMs de cetamina, detectamos el valor más bajo para *S. aureus* y *C. albicans*: 156 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,

y determinamos el valor más elevado para *P. aeruginosa*: 625 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

En la mezcla con el propofol, fueron medidas las CBMs de cetamina para *P. aeruginosa* y *C. albicans*: 625 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, y para *E. coli*, 1,250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. No nos fue posible determinar la CBM de *S. aureus* (CBM > 1,250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), por no haber ocurrido la inhibición.

La tabla 1 ilustra los valores medidos de las CIMs y CBMs de la cetamina para cada microorganismo.

Discusión

En este estudio, determinamos que el propofol fue una fuerte solución generadora de crecimiento microbiano, no solo para las bacterias sino también para los hongos. Considerando los tipos de los microorganismos, los gram-negativos *P. aeruginosa* y *E. coli* demostraron el más rápido índice de crecimiento, llegando a una concentración de 1×10^5 ufc. mL^{-1} dentro de 8 y 10 horas respectivamente, mientras que *C. albicans* alcanzó esa concentración en la 14ª hora. Por otro lado, *S. aureus* tuvo la velocidad relativa más lenta de crecimiento entre todas las cepas testadas (fig. 1).

La cetamina es un agente principalmente utilizado para la inducción y el mantenimiento de la anestesia general. Es una medicación importantísima, categorizada en la "Lista de Agentes Farmacológicos Esenciales" de la Organización Mundial de la Salud.¹⁴ La cetamina ejerce muchos efectos en los seres humanos, inclusive analgesia, anestesia, alucinaciones, elevación de la presión arterial y broncodilatación. En 2008, Gocmen et al.⁷ publicaron un estudio *in vitro* informando que la cetamina tenía una actividad antimicrobiana contra algunos estreptococos, estafilococos, *E. coli* y *P. aeruginosa*, en concentraciones entre 500-2.000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Frente al hecho de que el nivel sanguíneo anestésico de la cetamina era de aproximadamente 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, esos autores afirmaron que no fue posible observar esa actividad antibacteriana en humanos durante la anestesia.

Observamos que la cetamina tenía una actividad antibacteriana y anti fúngica potencial en las cepas testadas. Con relación a los tipos de microorganismos, constatamos que *P. aeruginosa* y *E. coli* son más resistentes; y *S. aureus* fue el más sensible a la cetamina. Detectamos que, en comparación con los microorganismos gram-negativos, *S. aureus* tenía valores de CIM 5 logs más bajos y valores de CBM 2 logs más bajos. Por otro lado, en nuestro experimento, los valores de CIM y CBM de cetamina para *C. albicans* fueron iguales.

En el presente estudio, investigamos la actividad antimicrobiana de la cetamina en mezcla con propofol. Esa mezcla ha sido utilizada exitosamente en diferentes situaciones clínicas, como: cuidados anestésicos monitorizados, terapia electro-convulsiva, sedación para procedimiento y analgesia en pacientes de emergencia.^{9-11,15} En esa mezcla (cetofol), observamos que la cetamina conservó sus actividades antibacterianas y anti-fúngicas en CBMs más altas. En nuestro estudio, no se pudo medir CIMs de cetamina en propofol, debido al hecho de haberse formado una solución turbia en las microplacas inmediatamente después de la

inclusión del propofol; eso no nos permitió tener una clara evaluación visual. Por tanto, detectamos solamente CBMs de cetamina en cetofol. Con relación a las cepas testadas, observamos un aumento del doble en los valores de CBM de cetofol para *E. coli* y *C. albicans*. Sin embargo, no se pudo determinar una CBM exacta de cetofol para *S. aureus*, por el hecho de que su valor estaba situado por encima del límite de detección del teste. Curiosamente, la CBM de esa mezcla no cambió en comparación con la evaluación de la cetamina aislada y permaneció estable para *P. aeruginosa* en 625 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

La infección es una preocupación considerable durante el uso clínico del propofol. Particularmente a causa de su base lipídica, ese agente proporciona un medio preferente para muchas clases de microorganismos. Por tanto, podrán ocurrir infecciones postoperatorias nosocomiales, que representan una carga muy pesada en términos de la morbilidad y la mortalidad, con graves consecuencias económicas en razón de la contaminación del propofol.¹⁶ Mueller et al.⁴ relataron un brote de sepsis causado por microorganismos gram-negativos, inclusive *Klebsiella pneumoniae* y *Serratia marcescens*, en siete pacientes, debido al uso de propofol contaminado en pequeños procedimientos quirúrgicos. Pero Henry et al.¹⁷ describieron una bacteriemia e infecciones de heridas postoperatorias causadas por *S. marcescens*, inmediatamente después del uso del propofol en Canadá. Además, Bennett et al.¹⁸ describieron infecciones relacionadas con el uso de propofol, inclusive infecciones en la corriente sanguínea, infección en la región quirúrgica y episodios febriles agudos en 62 casos, inmediatamente después de procedimientos quirúrgicos en siete hospitales norteamericanos. Esos autores identificaron *S. aureus*, *C. albicans* y las bacterias gram-negativas como *Moraxella*, *Enterobacter* y *Serratia* spp. como siendo las responsables de esas infecciones. En todos esos estudios, los autores enfatizaron que la contaminación extrínseca del propofol, como resultado de lapsos en la preparación aséptica y en la manipulación y el almacenaje de ese agente farmacológico, causó esas infecciones poniendo en riesgo la vida de los pacientes.

El *Center of Disease Control and Prevention* sugirió prácticas seguras para la medicación, como evitar el uso de jeringuillas en varios pacientes y también evitar frascos para la medicación individual para varios pacientes. También sugirió el rígido respeto a las técnicas asépticas y a las prácticas de control de las infecciones durante la aplicación del propofol.¹⁹ Además, para que se dé una reducción en la incidencia de infecciones postoperatorias relacionadas con el uso del propofol, se han fabricado emulsiones antimicrobianas conteniendo preservativos (i.e., EDTA o disulfito de sodio) de acuerdo con las discusiones sostenidas con la *Food and Drug Administration Agency* (FDA). Actualmente, esas formulaciones se usan en los Estados Unidos. Pero las soluciones de propofol sin un preservativo todavía están siendo comercializadas en Europa y en otras partes del mundo. En los Estados Unidos, Jansson et al.¹⁶ informaron una reducción en la incidencia de infecciones relacionadas con el uso del propofol, de 39 para 9 infecciones por año, inmediatamente después de la implementación del propofol conteniendo EDTA en 1996. Sin embargo, y visto que el problema

con el uso del propofol todavía continúa, y a pesar de la inclusión del preservativo, esos autores remarcaron que la adición del EDTA es solamente una precaución de seguridad adicional. Así, en cualquier situación el médico debe recurrir a las buenas prácticas de asepsia durante la medicación con el propofol. En nuestro estudio, tenemos una emulsión de propofol libre de preservativo, que también era usada en nuestro hospital. Aunque el propofol con la adición de antimicrobianos también está siendo comercializado en nuestro país, las formas libres de preservativos se prefieren mucho más posiblemente por razones económicas.

El Propofol y la cetamina se mezclan (como producto no licenciado), en la proporción volumétrica de 1:1 antes de la aplicación clínica. Esa mezcla contiene 5 mg.mL⁻¹ de cetamina.

En su estudio, Gocmen et al.⁷ informaron que los niveles sanguíneos de cetamina eran demasiado bajos para que mostraran algún efecto antimicrobiano en el cuerpo; por eso, decidimos investigar si esa sustancia podría impedir el crecimiento microbiano en combinación con el propofol. En el presente estudio, observamos que las CBMs de cetamina en la mezcla de cetofol estaban entre 625 y 1.250 µg.mL⁻¹ (> 1.250 µg.mL⁻¹ para *S. aureus*). Por tanto, creemos que la cetamina puede tener una utilidad en la reducción del crecimiento de algunos patógenos bacterianos y fúngicos en el propofol antes de la aplicación.

En este estudio, constatamos que, en particular, bacterias gram-negativas crecían rápidamente en una solución de propofol. Esos resultados son curiosamente similares a los datos previamente publicados en los estudios de brotes infecciosos.^{3,4,17,18} Creemos que ese fomento selectivo del propofol para los microorganismos gram-negativos podría explicar porque esas bacterias pueden ser los principales patógenos de los brotes nosocomiales relacionados con el uso del propofol.

En nuestro estudio también demostramos que la inclusión de la cetamina en el propofol puede reducir el crecimiento bacteriano y fúngico en esa solución y por ende, proporcionar una medicación anestésica segura para los abordajes quirúrgicos. Sin embargo, la actividad de la cetamina puede variar dependiendo del tipo de microorganismo. Por tanto, independientemente de esa protección, enfatizamos que deben ser cumplidas medidas higiénicas rígidas en cualquier ocasión en que se use el propofol, de acuerdo con las recomendaciones de las autoridades.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

References

- White PF, Romero G. Nonopioid intravenous anesthesia. En: Clinical anesthesia. 5a ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams&Wilkins; 2006. p. 334-52.
- 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.
- Abdelmalak BB, Bashour CA, Yared JP. Skin infection and necrosis after subcutaneous infiltration of propofol in the intensive care unit. *Can J Anaesth*. 2008;55:471-3.
- Muller AE, Huisman I, Roos PJ, et al. Outbreak of severe sepsis due to contaminated propofol: lessons to learn. *J Hosp Infect*. 2010;76:225-30.
- Miller AC, Jamin CT, Elamin EM. Continuous intravenous infusion of ketamine for maintenance sedation. *Minerva Anesthesiol*. 2011;77:812-20.
- Persson J. Wherefore ketamine? *Curr Opin Anaesthesiol*. 2010;23:455-60.
- Gocmen S, Buyukkocak U, Caglayan O. In vitro investigation of the antibacterial effect of ketamine. *Upsala J Med Sci*. 2008; 113:39-46.
- Kruszewska H, Zareba T, Tyski S. Search of antimicrobial activity of selected non-antibiotic drugs. *Acta Pol Pharm*. 2002;59:436-9.
- Andolfatto G, Willman E. A prospective case series of single-syringe ketamine-propofol (ketofol) for emergency department procedural sedation and analgesia in adults. *Acad Emerg Med*. 2011;18:237-45.
- Rapeport DA, Martyr JW, Wang LP. The use of "ketofol" (ketamine-propofol admixture) infusion in conjunction with regional anaesthesia. *Anaesth Intensive Care*. 2009;37:121-3.
- Weatherall A, Venclovas R. Experience with a propofol-ketamine mixture for sedation during pediatric orthopedic surgery. *Paediatr Anaesth*. 2010;20:1009-16.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. CLSI document M100-S19. Wayne, PA: 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing yeasts 3rd ed. approved standard M27-A3. Wayne, PA: 2008.
- World Health Organization. WHO Model List of Essential Medicines. 17th List. 2011. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2011/a95053_eng.pdf
- Erdogan Kayhan G, Yucel A, Colak YZ, et al. Ketofol (mixture of ketamine and propofol) administration in electroconvulsive therapy. *Anaesth Intensive Care*. 2012;40:305-10.
- Jansson JR, Fukada T, Ozaki M. Propofol EDTA and reduced incidence of infection. *Anaesth Intensive Care*. 2006;34:362-8.
- Henry B, Plante-Jenkins C, Ostrowska K. An outbreak of *Serratia marcescens* associated with the anesthetic agent propofol. *Am J Infect Control*. 2001;29:312-5.
- Bennett SN, McNeil MM, Bland LA, et al. Postoperative infections traced to contamination of an intravenous anesthetic, propofol. *N Engl J Med*. 1995;20:147-54.
- King CA, Ogg M. Safe injection practices for administration of propofol. *AORN J*. 2012;95:365-72.