

Deneysel Çalışma

Alkalinize Bupivakain ve Ropivakainin Antibakteriyel Etkinliği

Zekine Begeç, Nurçin Gülhaş, Hüseyin İlksen Toprak, Feray Erdil, Gülay Yetkin*,
M. Özcan Ersoy

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon, Mikrobiyoloji*
Anabilim Dalları, Malatya

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, alkalinize bupivakain ve ropivakainin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada % 0.5 bupivakain, % 0.2 ropivakain, % 0.5 bupivakain+NaHCO₃, % 0.2 ropivakain+NaHCO₃ solüsyonları ile *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* bakteri kültürleri kullanıldı. Bakteriler standart kanlı agarda üretildi. Bakteri kültürleri % 0.9 serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarlands yoğunluğunda (10⁸ cfu mL⁻¹) hazırlanarak her bir bakteri solüsyonu Mueller-Hinton'da dilüe edilip standart inokulum sağlandı (10⁵ cfu mL⁻¹). Test solüsyonları ve kontrolleri (serum fizyolojik) 2 mL olacak şekilde hazırlanarak üzerlerine 2 mL bakteri inokulumu eklendi. Karışımlar vorteksenerek steril polystyrene spektrofotometre küvetlerine 3 mL aktarıldı ve 37°C'de enkübe edildi. Optik dansite 0., 3. ve 6. sa.'te 540 nm'de spektrofotometre ile ölçüldü.

Bulgular: Bupivakain *S. aureus* ve *E. coli* üremesini tüm ölçüm zamanlarında inhibe ederken, *P. aeruginosa* sadece 6. sa.'te inhibe etti (p<0.05). Alkalinize bupivakain *S. aureus* üremesini 0. sa.'te *E. coli* ise, 0. ve 6. sa.'te inhibe etti (p<0.05). Bupivakainin *E. coli* üzerine antibakteriyel etkinliği 6. sa.'te alkalinize bupivakainden anlamlı yüksekti (p< 0.05). Ropivakain *S. aureus* üremesini 0. ve 3. sa.'te alkalinize ropivakainden daha fazla inhibe ederken, alkalinize ropivakain kontrole göre daha az inhibisyon yaptı (p<0.05). Ropivakain ve alkalinize ropivakain *E. coli* üremesini 3 ve 6. sa.'te inhibe ederken 0.sa.'te sadece ropivakain inhibe etti (p<0.05). Ropivakain ve alkalinize ropivakain *P. aeruginosa* üremesini 3.sa.'te inhibe etti (p<0.05).

Sonuç: Bupivakainin antibakteriyel etkisinin mevcut olduğu ve alkalinizasyonun bunu değiştirmedığı, ropivakainin zayıf antibakteriyel etkisi olduğu ve bunun alkalinizasyon ile daha da azaldığı saptandı.

Anahtar kelimeler: Bupivakain, ropivakain, mikrobiyolojik fenomen, sodyum bikarbonat

SUMMARY

Antibacterial Effectiveness of Alkalinized Ropivacaine and Bupivacaine

Aim: We aimed to investigate the antibacterial effects of alkalized ropivacaine and bupivacaine on the *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*

Materials and Methods: In this study, solutions of bupivacaine 0.5 %, ropivacaine 0.2 %, bupivacaine 0.5 % + NaHCO₃, ropivacaine 0.2 % + NaHCO₃ with bacterial cultures' *E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa* were used. Bacteria were grown on standard blood agar. Bacterial cultures were prepared in a density of 0.5 McFarlands units (10⁸ cfu ml⁻¹) with sterile saline 0.9 % and each bacterial solution was further diluted in Mueller-Hinton broth to obtain standard inocula (10⁵ cfu ml⁻¹). The tested solutions (2 ml) and controls (2 ml, physiological saline) were added to 2 ml of standard bacterial preparations. Aliquots (3 ml) were vortexed and pipetted into sterile polystyrene spectrophotometer cuvetts and it was incubated at 37°C. The optical density at 540 nm was measured at 0, 3 and 6 h by spectrophotometer.

Results: While bupivacaine inhibited the growth of *S. aureus* and *E. coli* at all measurements times, *P. aeruginosa* inhibited at only 6 h (p<0.05). Alkalized bupivacaine inhibited the growth of *S. aureus* at 0 h and *E. coli* at 0 and 6 h (p<0.05). Antibacterial effects of bupivacaine on *E. coli* was significantly higher than alkalized bupivacaine at 6h (p<0.05). While ropivacaine more inhibited the growth of *S. aureus* at 0 and 3 h than alkalized ropivacaine, alkalized ropivacaine less inhibited it according to the control (p<0.05). While both ropivacaine and alkalized ropivacaine inhibited the growth of *E. coli* at 3 and 6 h, at 0 h only ropivacaine inhibited it (p<0.05). Ropivacaine and alkalized ropivacaine inhibited the growth of *P. aeruginosa* at 3 h (p<0.05).

Conclusion: It has been determined that bupivacaine has antibacterial effect and alkalization of bupivacaine does not change it, ropivacaine has poor antibacterial effect and it more reduced with alkalization of ropivacaine.

Key words: Bupivacaine, ropivacaine, microbiological phenomena, sodium bicarbonate

Yapılan çalışmalarda, bupivacaine ve ropivacaine'in invitro olarak bakteriyel büyümeyi inhibe ettiği, ayrıca epidural anestezi sonrası enfeksiyon insidansının düşük olmasında lokal anestetiklerin antibakteriyel etkinliğinin katkısı olduğu gösterilmiştir (1-3).

Lokal anestetiklerin antibakteriyel etkilerinden; büyümenin inhibisyonu, yaşayan hücre sayısında azalma, protoplastların yıkımı, geçirgenlikte değişiklik, karakteristik ultrayapısal değişiklikler ve membran bağımlı enzimatik aktivitenin inhibisyonu sorumlu tutulmaktadır (4).

Lokal anestetikler farklı pH değerlerine sahiptir. Klinikte kullanılan lokal anestetiklerin pH değerleri 3.2 ve 6.5 arasında değişmektedir (5). Bu asidik pH düşük noniyonize fraksiyondan sorumludur. Lokal anestetikler alkalize edilerek noniyonize fraksiyonu artırılıp; ilacın etki yeri olan sinir hücre membranlarına daha hızlı bir şekilde geçmesi sağlanır. Alkalizasyonda amaç; lokal anestetiklerin etki başlangıcını hızlandırmak, etki süresini uzatmak, anestezi kalitesini artırmaktır (6,7).

Anestezi pratiğinde alkalinize lokal anestezikler epidural ve periferik blok uygulamalarında sık olarak kullanılmakla birlikte, literatürde alkalinize bupivakain ve ropivakainin antibakteriyel aktivite üzerine etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, alkalinize bupivakain ve ropivakainin *E. coli*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkilerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada % 0.5 bupivakain (Marcaine® % 0.5, AstraZeneca), % 0.2 ropivakain (Naropin® % 0.2, AstraZeneca) ve bu ilaçların alkalinize edilmiş halleri kullanıldı. Alkalinizasyon sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ile yapıldı. (0.1 mL % 8.4 NaHCO₃/20 mL % 0.5 bupivakain veya % 0.2 ropivakain).

Çalışmada üç bakteri türü kullanıldı; *Escherichia coli* ATCC25922 (American Type Culture Collection No. 25922), *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (American Type Culture Collection No. 25923) ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 (American Type Culture Collection No. 27853). Bakteriler % 5 kanlı agarda bir gece enkübe edilerek üretildi. Bir gecelik enkübasyondan sonra taze bakteri kültürleri % 0.9 serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarlands yoğunluğunda (108 cfu mL⁻¹) hazırlandı ve her bir bakteri solüsyonu Mueller-Hinton'da dilüe edilerek standart inokulum sağlandı (105 cfu mL⁻¹).

İlaç dilüsyonları ve kontrolleri (serum fizyolojik) 2 mL olacak şekilde hazırlanarak üzerlerine 2 mL standart bakteri inokulumu ilave edildi. Son konsantrasyonlar, bupivakain için 2.5 mg mL⁻¹, ropivakain için 1 mg mL⁻¹ idi.

Bu karışımlar vortekslenerek steril polystyrene spektrofotometre küvetlerine 3 mL aktarıldı ve 37°C'de etüvde enkübe edilerek 0., 3., ve 6. saatlerde spektrofotometrede 540 nm'de optik dansitesi ölçüldü. (LKB BIOCHROM ULTROSPEC PLUS). Bir çalışmada her bir suş iki kez çalışıldı ve çalışma beş kez tekrar edildi.

Verilerin istatistiki analizinde SPSS 10.0 programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma (Ort.±SS) olarak verildi. Shapiro-Wilk testine göre tüm sonuçlar anormal dağılım gösterdiğinden gruplararası farklılığı değerlendirmede Mann-Whitney U-testi, grup içi karşılaştırmalarda ise Wilcoxon testi kullanıldı. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızda bupivakainin *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkinliğinin olduğu ve alkalinize bupivakainde bu etkinin *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerine değişmediğini saptadık. Ropivakain ise, sadece *E. coli* üzerine etkiliyken diğer iki mikroorganizma üzerine etkili değildi ve aynı zamanda alkalinizasyon ropivakainin antibakteriyel etkinliğini azalttı.

Bupivakain kontrole göre tüm çalışma noktalarında *S. aureus* üremesini inhibe ederken alkalinize bupivakain sadece başlangıçta inhibe etti (p<0.05). Antibakteriyel etkinlik açısından bupivakain ve alkalinize bupivakain farklı değildi (Tablo 1).

Bupivakain kontrole göre tüm çalışma noktalarında E. coli üremesini inhibe ederken, alkalinize bupivakain sadece 0., ve 6. sa.'te inhibe etti ($p<0.05$). Bupivakain ile alkalinize bupivakain karşılaştırıldığında ise, 6. sa.'te bupivakainin antibakteriyel etkinliği alkalinize bupivakaine göre anlamlı yüksekti ($p<0.05$) (Tablo 2).

Bupivakain kontrole göre P. aeruginosa üremesini 6. sa.'te inhibe ederken ($p<0.05$), alkalinize bupivakainde anlamlı fark yoktu. Antibakteriyel etkinlik açısından bupivakain ve alkalinize bupivakain farklı değildi (Tablo 3).

Ropivakainin S. aureus üremesi üzerine olan etkisi kontrole göre farklı değilken, 0. ve 3. sa.'te alkalinize ropivakainden daha fazla inhibisyon yaptı ($p<0.05$). Alkalinize ropivakain ise, 0. ve 3. sa.'te kontrole göre daha az inhibisyon yaptı ($p<0.05$) (Tablo 4).

Ropivakain E. coli üremesi üzerine tüm çalışma noktalarında inhibisyon yaparken, alkalinize ropivakain 3. ve 6. sa.'te inhibisyon yaptı ($p<0.05$). Ropivakain ile alkalinize ropivakain karşılaştırıldığında ise, 0. sa.'te ropivakain daha etkili bulundu ($p<0.05$) (Tablo 5).

Ropivakain ve alkalinize ropivakain kontrole göre P. aeruginosa üremesini 3. sa.'te daha fazla inhibe etti ($p<0.05$). Ropivakain ve alkalinize ropivakainin karşılaştırıldığında tüm çalışma noktalarında P. aeruginosa üzerine antibakteriyel etkinlik anlamlı farklı değildi (Tablo 6).

TARTIŞMA

Klinikte lokal anesteziğin antibakteriyel etkinliğini araştırmak amaçlı yapılan birçok çalışmada bupivakain % 0.75-% 0.0625, ropivakain % 1-% 0.0625 konsantrasyon aralığında kullanılmıştır (1,3,8). Çalışmamızda kullandığımız konsantrasyon bu aralıkta yer almakta olup, benzer şekilde bupivakaini 2.5 mg mL⁻¹, ropivakaini 1 mg mL⁻¹ olacak şekilde kullandık. Goodman ve ark.'ı (8) S. aureus inhibe eden minimum bupivakain konsantrasyonunu % 0.25 olarak bulmuştur. Pere ve ark.'nın (2) bupivakain ve ropivakainin antibakteriyel etkinliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında bupivakain 3.75 mg mL⁻¹ konsantrasyonunda E. coli, S. aureus ve P. aeruginosa'nın büyümesini inhibe ederken, 0.938 mg mL⁻¹ konsantrasyonda P. aeruginosa üzerine inhibitör etki göstermiştir. Ropivakain ise, 3.75 mg mL⁻¹ konsantrasyonda P. aeruginosa, E. coli üzerine inhibitör etki göstermiştir. Ancak, ropivakainin 0.938 mg mL⁻¹ konsantrasyonlarında, Pere ve ark.'ı (2) çalışmamızda kullandığımız bakteriler de dahil olmak üzere tüm çalıştıkları bakteriler üzerine herhangi bir inhibitör etki gösterememiştir.

Ropivakain ve bupivakain bir alkil grupları haricinde aynı kimyasal yapıya sahip olmalarına rağmen, alkil grubundaki bu farklılık ropivakainin daha zayıf antibakteriyel etkinliğinden sorumlu tutulmuştur (2). Yapılan birçok çalışmada ropivakainin antibakteriyel etkinliği ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Batai ve ark.'nın (1) yaptıkları çalışmada 10 mg mL⁻¹ ropivakain S. aureus ve E. coli'nin büyümesini inhibe ederken, 2 mg mL⁻¹ ropivakainin E. coli üzerine aynı etkinliği gösterilememiştir. Çalışmamızda onlarınkinden farklı olarak ropivakaini 1 mg mL⁻¹ konsantrasyonda kullandık ve E. coli üzerine etkili bulduk. Bunun sebebi Batai ve

ark.'nın bakteriyel büyümei değerlendirmek için koloni sayma metodu (CFU) kullanmış olmaları, bizim ise daha hassas bir yöntem olan optik dansite (absorbans) metodunu kullanmamız olabilir. Kampe ve ark.'ı (9) % 0.1 ropivakain ve 1 µg mL-1 sufentanilin *P. aeruginosa* üzerine antibakteriyel etkinliği olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçta ropivakaine eklenen sufentanilin olası antibakteriyel etkinliğinin katkısı olabilir. Tamanai-Shacoori ve ark.'nın (10) yaptıkları çalışmada ise, 1.2 mg mL-1 ropivakainin *S. aureus* ve *E. coli* üzerine inhibitör etki yaptığı gösterilmiştir. Ancak, Tamanai-Shacoori ve ark.'ı çalışmasında ropivakaini bizimkinden daha yüksek konsantrasyonda kullanmıştır.

Lokal anesteziğin alkalinizasyonunun antibakteriyel aktivite üzerine etkinliği ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Williams ve ark.'ı (11) NaHCO₃'ün antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında NaHCO₃'ün *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerine artmış bir inhibisyon yaptığını göstermiştir. Farklı olarak çalışmamızda NaHCO₃'ü bupivakain ve ropivakain ile birlikte kullandık. % 0.2 ropivakain için 20 mL lokal anesteziğe 0.1 mL (% 8.4) sodyum bikarbonat ilavesinin en az presipitasyon ve en fazla noniyonize lokal anesteziği sağladığı bildirilmiştir (12). Ayrıca, % 0.5 bupivakain için benzer oranda alkalinizasyonun lokal anesteziğin pH'nı artırarak etki başlama süresini kısaltıp, etki süresini uzattığı gösterildiğinden çalışmamızda 20 mL lokal anesteziğe 0.1 mL (% 8.4) sodyum bikarbonat ekledik (13).

Thompson ve ark.'ı (14) lidokain ile alkalize lidokainin antibakteriyel aktivitesini karşılaştırdıkları çalışmalarında alkalinizasyonun antibakteriyel aktiviteyi % 99'dan daha fazla artırdığını göstermiştir. Thompson ve ark.'ı % 0.1 metilparaben ve 1.0 mg mL-1 epinefrin içeren % 4 lidokain kullanmıştır. Farklı olarak çalışmamızda kullandığımız ropivakain ve bupivakain epinefrin ve metilparaben içermemektedir. Metilparaben lidokainde sık kullanılan bir preservative'dir ve antibakteriyel etkinliği daha önceden bildirilmiştir (15). Alkalinizasyonun antibakteriyel etkinliği bu kadar artırmasından kullandıkları metilparaben sorumlu olabilir, ayrıca Thompson ve ark.'nın (14) antibakteriyel aktiviteyi değerlendirdikleri metod çalışmamızda kullandığımız metoddan farklıdır.

Sonuç olarak, bupivakainin antibakteriyel etkisinin mevcut olduğu ve alkalinizasyonun bunu değiştirmediği, ancak ropivakainin zayıf antibakteriyel etkisinin olduğu ve bunun alkalinizasyon ile daha da azaldığı saptandı.

KAYNAKLAR

1. Batai I, Kerenyi M, Falvai J, Szabo G. Bacterial growth in ropivacaine hydrochloride. *Anest Analg* 2002; 94:729-731.
2. Pere P, Lingdren L, Vaara M. Poor antibacterial effect of ropivacaine. Comparison with bupivacaine. *Anesthesiology* 1999; 91:884-886.
3. Aydın ON, Eyigör M, Aydın N. Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anaesthetics. *Eur J Anaesthesiol* 2001; 18:687-694.
4. Silva MT, Sousa JCF, Polonia JJ, Macedo PM. Effects of local anaesthetics on bacterial cells. *J Bacteriol* 1979; 137:461-468.
5. Moore DC. The pH of local anesthetic solutions. *Anesth Analg* 1981; 60:833-834.
6. Ramos G, Pereira E, Simonetti M. Does alkalization of 0.75 % ropivacaine promote a lumbar peridural block of higher quality? *Reg Anesth Pain Med* 2001; 26:357-362.

7. Moğol EB, Türker G, Özkan U, Uçkunkaya N, Şahin Ş. İnfraklaviküler brakiyal pleksus blokajında alkalinize bupivakainin etkisi. *Türk Anest Rean Der Dergisi* 2003; 31:353-357.
8. Goodman EJ, Jacobs MR, Bajaksouzian S, Windau AR, Dagirmanjian JP. Clinically significant concentrations of local anesthetics inhibit *Staphylococcus aureus* in vitro. *Int J Obstet Anesth.* 2002; 11:95-99.
9. Kampe S, Poetter C, Buzello S, et al. Ropivacaine 0.1 % with sufentanil 1 µg/mL inhibits in vitro growth of *Pseudomonas aeruginosa* and does not promote multiplication of *Staphylococcus aureus*. *Anesth Analg* 2003; 97:409-411.
10. Tamanai-Shacoori Z, Shacoori V, Vo Van JM, Robert JC, Bonnaure-Mallet M. Sufentanil modifies the antibacterial activity of bupivacaine and ropivacaine. *Can J Anesth* 2004; 51:911-914.
11. Williams BJ, Hanke CW, Bartlett M. Antimicrobial effects of lidocaine, bicarbonate, and epinephrine. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37:662-664.
12. Fulling PD, Peterfreund RA. Alkalinization and precipitation characteristics of 0.2% ropivacaine. *Reg Anesth Pain Med* 2000; 25: 518-521.
13. McMorland GH, Douglas MJ, Axelson JE, et al. The effect of pH adjustment of bupivacaine on onset and duration of epidural anaesthesia for caesarean section. *Can J Anaesth* 1988; 35:457-461
14. Thompson KD, Welykyj S, Massa MC. Antibacterial activity of lidocaine in combination with a bicarbonate buffer. *J Dermatol Surg Oncol* 1993; 19:216-220.
15. Miller MA, Shelley WB. Antibacterial properties of lidocaine on bacteria isolated from dermal lesions. *Arch Dermatol* 1985; 121:1157-1159.

Türk Anest Rean Der Dergisi 2007; 35(1):16-22

Klinik Çalışma

Aksiller Blok Uygulamasında % 0.5 Ropivakain,
% 0.75 Ropivakain ve % 0.5 Bupivakainin Anestezik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Leyla Kılınç, Surhan Özer Çınar*, Hale Dobrucalı, G. Ulufer Sivrikaya, Ayşe Hancı

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1.* ve 2. Anestezi ve Reanimasyon Kliniği,
İstanbul

ÖZET

Amaç: Aksiller blok uygulamasında % 0.5 ropivakain, % 0.75 ropivakain ve % 0.5 bupivakainin anestezik etkilerinin karşılaştırılması planlandı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya el ve önkol cerrahisi geçirecek , ASA I-II grubu, 18-60 yaş arası 60 olgu katıldı. Tüm olgular midazolam iv 0.02 mg kg-1 ile premedike edildi. Brakial pleksus 22 G iğne kullanılarak sinir stimülasyonu tekniği ile bulundu. Üç gruba ayrılan olgulara, Grup I'de % 0.5 ropivakain, Grup II'de % 0.75 ropivakain, Grup III'de % 0.5 bupivakain 40 mL aksiller kılıf içine verildi. Hemodinamik parametreler, duyuşal ve motor bloğun başlama süresi, duyuşal ve motor bloğun ortadan kalkma süreleri, kilo başına düşen lokal anestezik miktarı ve yan etkiler ile muskulokutan, mediyan, ulnar, radyal sinir innervasyon bölgesindeki duyuşal ve