

Efecto del Yogurt, Leche y jugo de Toronja sobre la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de Ciprofloxacina frente a *Escherichia coli* aislada de infecciones del tracto urinario

Ivón Núñez D²., Jacqueline Tomapasca V²., Martha Vergara E¹., Katherine Ipanaque³
M., Cesar Cabrejos M³

Resumen

Determinar el efecto del yogurt, leche y jugo de toronja sobre la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ciprofloxacina frente a *Escherichia coli*. Estudio Experimental in vitro. Se utilizó Agar nutritivo para la siembra de *Escherichia coli*, con el método de macrodilución en caldo para la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ciprofloxacina, leche, yogurt y jugo de toronja. Se preparó la solución madre de trabajo para el antibiótico y los alimentos según la Norma Técnica Peruana del INS. Se determinó la CMI de Ciprofloxacina sobre *E. coli* y la CMI de ciprofloxacina con leche, yogurt y jugo de toronja sobre la especie bacteriana. Los datos fueron procesados a través de ANOVA y TUKEY. El CMI para la cepa N°1 de *E. coli* fueron: Ciprofloxacina 0.02 ug/ml, Ciprofloxacina con leche y yogurt 0.04 ug/ml y Ciprofloxacina con toronja 0.08 ug/ml; y para la cepa N°2 de *E. coli* fue: Ciprofloxacina 0.32 ug/ml, Ciprofloxacina con leche y yogurt 0.64 ug/ml y Ciprofloxacina con toronja 1.28 ug/ml. La CMI de ciprofloxacina de 500 mg frente a la cepa 1 de *E. coli* fue de 0.02 ug/ml y para la cepa 2 de *E. coli* fue de 0.32 ug/ml. De los tres productos empleados el jugo de toronja incremento en mayor medida la CMI de ciprofloxacina.

Palabras clave: CMI – CMB – Ciprofloxacina - *E. coli* – Leche -Yogurt - jugo de toronja.

Abstract

To determine the effect of yogurt, milk and juice of grapefruit on the minimum inhibitory concentration (MIC) of ciprofloxacin against *Escherichia coli*. in vitro Experimental study. Nutrient Agar was used for the sowing of *E. coli*, with the method of macrodilution in stock for the minimum inhibitory concentration (MIC) of ciprofloxacin, milk, yogurt and grapefruit juice. Working stock solution was prepared for antibiotic and food according to the Peruvian technical standard of the INS. Determined the CMI of ciprofloxacin *E. coli* and the MIC of ciprofloxacin with milk, yogurt and juice of grapefruit on the bacterial species. The data were processed through ANOVA and TUKEY. The CMI for the strain N°1 of *e. coli* were: ciprofloxacin 0.02 ug/ml ciprofloxacin with milk and yogurt 0.04 ug/ml and ciprofloxacin with grapefruit 0.08 ug/ml; and for the strain N ° 2 of *E. coli* was: ciprofloxacin 0.32 ug/ml ciprofloxacin with milk and yogurt 0,64 ug/ml and ciprofloxacin with grapefruit 1.28 ug/ml. The MIC of Ciprofloxacin 500 mg against 1 strain of *E. coli* was 0.02 ug/ml and for the 2 strain of *E. coli* was 0.32 ug/ml. Of the three products used grapefruit juice increased to a greater extent the CMI of ciprofloxacin.

Key words: MIC - Ciprofloxacin; *E. coli* - Ciprofloxacin; Ciprofloxacin - Milk - Yogurt - grapefruit juice.

¹ Docente Facultad de Ciencias Biológicas – Área Microbiología mavergaraes@hotmail.com
² Egresadas de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNPRG quililin_tv@hotmail.com
ivonne8747@gmail.com
³ Docentes USMP – FN. MSc. en Microbiología – UNPRG doc_erika@hotmail.com
ccabrejosm@unprg.edu.pe

Introducción

Poco a poco las interacciones medicamentos y alimentos han ido cobrando importancia, mientras hace algunos años no eran tomadas en cuenta; no obstante, en la actualidad se sabe que los alimentos contienen nutrientes y otras sustancias que pueden afectar en diferente grado la farmacocinética y la farmacodinámica de los medicamentos y, de igual manera, los medicamentos causan impacto sobre el estado nutricional, ya sea produciendo una deficiencia nutricional o interfiriendo en el proceso natural de la alimentación. Es importante difundir las evidencias obtenidas para que los profesionales de la salud conozcan su frecuencia e importancia, así como el impacto que puede tener en su práctica clínica diaria para las indicaciones que hacen a sus pacientes en relación con los medicamentos y los alimentos que consumen. Todos los profesionales involucrados con el tratamiento del paciente deben tener acceso a esta información, ya que ellos son quienes dan las indicaciones directas de cómo y cuándo preparar, tomar y aplicar el medicamento, así mismos evalúan el tratamiento o prescriben la dieta del paciente según su diagnóstico (Luque 2010). La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) está definida como la concentración más baja de un agente antimicrobiano que evita el crecimiento visible de microorganismos.

La determinación de la CMI para los patógenos específicos, provee datos, que conjuntamente con los parámetros farmacocinéticos de los agentes antimicrobianos, posibilita predecir la eficacia del compuesto en el tratamiento de alguna enfermedad específica. En base a la información recaudada, se sabe que aquellos productos que contienen calcio como los derivados lácteos y jugo de frutas, interfieren con el efecto antimicrobiano de algunos medicamentos, tal es el caso de la quinolona Ciprofloxacina administrada para el tratamiento de infecciones urinarias, cuyo efecto disminuye si se administra con ciertos productos alimenticios (Manzano 2007).

Por todas estas consideraciones se formuló la siguiente interrogante ¿Tienen efecto el yogurt, leche y jugo de toronja sobre la Concentración Mínima Inhibitoria de Ciprofloxacina frente a *Escherichia coli*? Las respuestas se buscan a través de la ejecución del presente estudio cuyo objetivo general es: Determinar el efecto del yogurt, leche y jugo de toronja sobre la Concentración Mínima Inhibitoria de Ciprofloxacina frente a *Escherichia coli* aislada de infecciones del tracto urinario, y como objetivos específicos: Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de Ciprofloxacina frente a *Escherichia coli*

aislada de infecciones del tracto urinario y Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de Ciprofloxacina con cada

solvente frente a *Escherichia coli* aislada de infecciones del tracto urinario

MATERIAL Y METODOS

Población y muestra

Para la CMI la población y muestra para cada sustrato (ciprofloxacina con leche, yogurt o con jugo de toronja) teniendo en cuenta trece concentraciones del producto y dos repeticiones, es de 26. Para la CMB, la población y muestra para cada sustrato (ciprofloxacina con leche, yogurt o con jugo de toronja) teniendo en cuenta diez concentraciones del producto y tres repeticiones, es de 30.

Material biológico

Cepas de *Escherichia coli* aisladas de infecciones del tracto urinario.

Fase de laboratorio

I. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de ciprofloxacina y ciprofloxacina con leche, yogurt o jugo de toronja sobre *Escherichia coli*. Método de macrodilución en caldo según la Norma Técnica Peruana N°30 del INS.

A. Obtención del inóculo bacteriano

Reactivación de la cepa. – Se inoculo una asada de la cepa bacteriana en caldo

nutritivo. Se incubo a 37°C/24 horas y se procedió luego a sembrar en Agar nutritivo, para obtener colonias de *E. coli*. Después se procedió a diluir colonias bacterianas en solución salina fisiológica hasta ajustarlo al tubo N°5 de la escala de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC x mL). Finalmente se diluyó en Caldo Muller Hinton 1/100 al inóculo antes preparado, a esta dilución se llamó Inóculo de trabajo y contenía $1,5 \times 10^6$ UFC / mL.

B. Preparación de la solución antibiótico de ciprofloxacina y ciprofloxacina con leche, yogurt o jugo de toronja.

La solución estándar de antibiótico es una solución concentrada de la que se hicieron diluciones “solución antibiótico de trabajo”. Para determinar la cantidad de antibiótico a utilizar se aplicó la siguiente formula:

$$WA \text{ mg} = \frac{VSE \text{ mL} \times CSE \text{ ug/mL}}{PA \text{ ug/mg}}$$

WA: Peso del antibiótico

VSE: Volumen de la solución estándar en mL

CSE: Concentración de la solución estándar en ug/mL

PA: Potencia del antibiótico.

Preparación de la solución madre de ciprofloxacina a una concentración de 20480µg/mL

En un mortero se trituró las tabletas de ciprofloxacina 500 mg. Se pesó 10.24 g obtenida de la aplicación de la formula anterior del antibiótico en una balanza electrónica y se agregó a un matraz conteniendo 250 mL de agua destilada estéril.

Preparación del antibiótico de trabajo de ciprofloxacina

En un matraz se sirvió 100 mL de Caldo Nutritivo. Luego se le agregó 0,1mL de la solución madre, de esta manera se obtuvo una solución mil veces más diluida que la solución madre con 20.48 ug/mL, esta se llamó solución antibiótica de trabajo.

Preparación de las soluciones madre de ciprofloxacina con leche, yogurt o jugo de toronja a una concentración de 20480 µg/mL.

Las soluciones madre de ciprofloxacina con leche, yogurt o jugo de toronja como diluyentes se obtuvieron de la siguiente manera: Se obtuvieron 10.24 gr de ciprofloxacina y se diluyeron en 250 mL de leche, yogurt y jugo de toronja según el caso.

Preparación del antibiótico de trabajo de ciprofloxacina con leche, yogurt o jugo de toronja.

La preparación fue de la siguiente manera: en un matraz se agregó 100 mL de caldo nutritivo y se le agregó 0.1 mL de las soluciones madre de ciprofloxacina más leche de vaca, yogurt o jugo de toronja, obteniendo la solución antibiótica de trabajo respectiva, con una concentración de 20.48 ug/mL.

C. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de tabletas de ciprofloxacina sobre *E coli*.

Después de tener las soluciones de antibiótico de trabajo y el inóculo de trabajo se realizó el siguiente procedimiento: Se acondicionó una batería de 15 tubos. Se sirvió 0,5 mL de Caldo Mueller Hinton desde el tubo N°2 al 15. Luego se sirvió 0,5mL de la solución de antibiótico de trabajo de una concentración de 20.48 ug/mL al tubo N°1 y al N°2. Se transfirió 0,5mL del tubo N°2 al N°3 y se continuó el mismo procedimiento hasta el tubo N°13, descartándose 0,5 mL de la dilución del tubo N°13. Durante estos pasos sucesivos el antibiótico se fue diluyendo. Se

depositó 0,5mL del inóculo bacteriano (*Escherichia coli*) desde el tubo N° 1 al N°14. El tubo N°14 fue el control de inóculo y el N°15 fue el control de esterilidad. Se incubó a 35°C en un tiempo de 16 – 20 horas. Finalmente se realizó la interpretación de los resultados, por falta de turbidez del caldo, para ello se comparó cada tubo con el tubo de control de crecimiento.

D. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de tabletas de ciprofloxacina con leche, yogurt o jugo de toronja.

Se realizó el mismo procedimiento que se utilizó para determinar la CMI de Ciprofloxacina. La única diferencia es que, la solución de antibiótico de trabajo que se empleó, es aquella en la cual se utilizó: leche, yogurt y jugo de toronja.

II. Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB). Método de Schoenknecht y col. (1983), en Koneman (2001)

De los tubos de la CMI, en los que la suspensión estaba aparentemente transparente (falta de turbidez), se vertió 0.1 mL de cada tubo en la superficie de placas de agar Muller Hinton. Se distribuyó la solución sobre el agar con la espátula de Driglaskly. Posteriormente se incubó en aerobiosis a 35°C por 16 a 20 horas. Se realizó el conteo de las colonias bacterianas en cada placa de subcultivo de la CMI. Finalmente se calculó el porcentaje de colonias sobrevivientes con respecto al inóculo original. La concentración de antibiótico que mata al 99.9% del inóculo inicial representa a la CMB.

Análisis estadístico de los datos.

Para la determinación de la CMI de ciprofloxacina y ciprofloxacina con leche, yogurt o jugo de toronja son explicados en las tablas, cuadros y gráficos correspondientes. Además, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y Tukey a partir de los datos obtenidos en la CMB, para la cepa 1 de *Escherichia coli*, aislada de una ITU

RESULTADOS

Se trabajó con dos cepas de *E.coli* las cuales fueron empleadas de manera independiente para realizar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de Ciprofloxacina de 500 mg y posteriormente determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ciprofloxacina con leche, yogurt y jugo de toronja frente a las cepas. (Tabla 1 y Tabla 2)

Tabla 1.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de ciprofloxacina, ciprofloxacina con leche, yogurt y con jugo de toronja frente a la cepa 1 de E. coli.

Antibiótico/ Producto	Número de tubo con su respectiva concentración del antibiótico en ug/mL														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	10.24	5.12	2.56	1.28	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005	0.0025	CI	CE
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
Ciprofloxacina/ Leche	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Ciprofloxacina/ Yogurt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Ciprofloxacina/ Toronja	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
- No hay crecimiento visible			+ Sí hay crecimiento visible				CI: Control del inóculo				CE: Control de esterilidad				

Tabla 2.

Concentración mínima inhibitoria (CMI) de ciprofloxacina, ciprofloxacina con leche, yogurt y jugo de toronja frente a la cepa 2 de E. coli

Antibiótico/ Producto	Número de tubo con su respectiva concentración del antibiótico en ug/mL														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	10.24	5.12	2.56	1.28	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005	0.0025	CI	CE
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ciprofloxacina/ Leche	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ciprofloxacina/ Yogurt	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ciprofloxacina/ Toronja	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
- No hay crecimiento visible			+ Sí hay crecimiento visible				CI: Control del inóculo				CE: Control de esterilidad				

Además, se determinó la concentración mínima bactericida (CMB) para ambas cepas de *E. coli*. Para la cepa 1 de *E. coli*, Ciprofloxacina presentó una CMB de 0.02 ug/mL (400 UFC/mL), ciprofloxacina con leche 0.08 ug/mL (265 UFC/mL), ciprofloxacina con yogurt 0.08 ug/mL (705 UFC/mL) y para ciprofloxacina con jugo de toronja una CMB de 0.16 ug/mL (590 UFC/mL). (Tabla 3). En el caso de la cepa 2 de *E. coli*, no hubo crecimiento en placa en ninguna de las repeticiones, por ende, no se aplicó el tratamiento estadístico.

Tabla 3. UFC/mL de la cepa 1 de *E. coli* sobrevivientes a ciprofloxacina, ciprofloxacina con leche, ciprofloxacina con yogurt y ciprofloxacina con jugo de toronja.

Antibiótico/ Producto	Número de tubo y concentración del antibiótico en ug/mL y sobrevivientes en UFC/mL									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	10.24	5.12	2.56	1.28	0.64	0.32	0.16	0.08	0.04	0.02
Ciprofloxacina	0	0	0	0	70	65	130	250	335	400
Ciprofloxacina/ Leche	0	20	40	80	110	220	230	265	780	1110
Ciprofloxacina/ Yogurt	0	20	100	150	195	215	530	705	965	----
Ciprofloxacina/ Toronja	10	20	115	145	215	505	590	3995	----	----

---- (Incontables)

Con el análisis de varianza (ANOVA) se determinó que la CMB a las concentraciones: 0.64, 0.32, 0.16 y 0.08 ug/mL de ciprofloxacina frente a la cepa 1 de *E. coli* es dependiente del solvente utilizado (Leche de vaca, yogurt, jugo de toronja). (Tabla 4)

Tabla 4.

Análisis de varianza del promedio de sobrevivientes de E. coli a las concentraciones 0.64, 0.32, 0.16 y 0.08 para los cuatro grupos experimentales (ciprofloxacina, ciprofloxacina con leche, ciprofloxacina con yogurt y ciprofloxacina con jugo de toronja)

CMB	ORIGEN DE VARIACION	SC	GL	PC	F	P. valor	DECISION
0.64	EG	42675	3	14225	39.24	3.9304E-05	Rechazar H0
	DG	2900	8	362.5			
0.32	EG	304106.25	3	101368.75	92.68	1.4888E-06	Rechazar H0
	DG	8750	8	1093.75			
0.16	EG	453600	3	151200	177.88	1.1642E-07	Rechazar H0
	DG	6800	8	850			
0.08	EG	29372156.25	3	9790718.75	82448.16	2.69E-18	Rechazar H0
	DG	950	8	118.75			

EG= Entre grupos DG= Dentro de los grupos SC=Suma de cuadrado GL= Grados de libertad
PC= Promedio de cuadrados F= Prueba F

Estadísticamente se demostró, a través de la prueba de Tukey que a una concentración de 0.64, 0.32, 0.16 y 0.08 ug/ml de ciprofloxacina el promedio de las

ufc/ml de *Escherichia coli* aumentó en base a los solventes utilizados (leche, yogurt y jugo de toronja). Ver tablas 5, 6, 7 y 8

Tabla 5:

Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de las ufc/ml de *Escherichia coli* a una concentración de 0.64ug/ml de ciprofloxacina, ciprofloxacina/leche, ciprofloxacina/yogurt y ciprofloxacina/toronja.

HDS= 49.80

CONCENTRACION (0.64 ug/ml)		
Antibiótico/Solvente	Promedio ufc/ml	Significancia
Ciprofloxacina	70	a
Ciprofloxacina/leche	110	a
Ciprofloxacina/yogurt	195	b
Ciprofloxacina/toronja	215	b

*Letras iguales (no hay diferencias significativas)

* Letras diferentes (diferencia significativa)

Tabla 6.

Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de las ufc/ml de *Escherichia coli* a una concentración de 0.32ug/ml de ciprofloxacina, ciprofloxacina/leche, ciprofloxacina/yogurt y ciprofloxacina/toronja.

HDS= 86.50

CONCENTRACION (0.32 ug/ml)		
Antibiótico/Solvente	Promedio ufc/ml	Significancia
Ciprofloxacina	65	a
Ciprofloxacina/leche	220	b
Ciprofloxacina/yogurt	215	b
Ciprofloxacina/toronja	505	c

*Letras iguales (no hay diferencias significativas)

* Letras diferentes (diferencia significativa)

Tabla 7: Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de las ufc/ml de *Escherichia coli* a una concentración de 0.16ug/ml de ciprofloxacina, ciprofloxacina/leche, ciprofloxacina/yogurt y ciprofloxacina/toronja.

HDS= 76.25

CONCENTRACION (0.16 ug/ml)		
Antibiótico/Solvente	Promedio ufc/ml	Significancia
Ciprofloxacina	130	a
Ciprofloxacina/leche	230	b
Ciprofloxacina/yogurt	530	c
Ciprofloxacina/toronja	590	c

*Letras iguales (no hay diferencias significativas)

* Letras diferentes (diferencia significativa)

Tabla 8: Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de las ufc/ml de *Escherichia coli* a una concentración de 0.08ug/ml de ciprofloxacina, ciprofloxacina/leche, ciprofloxacina/yogurt y ciprofloxacina/toronja.

HDS= 28.50

CONCENTRACION (0.08 ug/ml)		
Antibiótico/Solvente	Promedio ufc/ml	Significancia
Ciprofloxacina	250	a
Ciprofloxacina/leche	265	a
Ciprofloxacina/yogurt	705	b
Ciprofloxacina/toronja	3995	c

*Letras iguales (no hay diferencias significativas)

* Letras diferentes (diferencia significativa)

DISCUSION

En el presente estudio inicialmente se determinó la sensibilidad de las cepas utilizadas, así las CMI de ambas (0.02 y 0.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para las cepas 1 y 2 respectivamente) estuvieron dentro del rango establecido en el método M07-A8 del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI), que considera como cepas sensibles a ciprofloxacina a aquellas enterobacteriaceas cuya CMI es menor o igual a 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, como se conoce, la ciprofloxacina es un antibiótico que actúa sobre el material genético inhibiendo a la topoisomerasa IV y a la DNA-girasa de las bacterias, particularmente sobre las bacterias gramnegativas, por ello se usa con mayor frecuencia para el tratamiento de infecciones del tracto urinario ocasionadas por enterobacteriaceas como *E. coli*. (Patel *et al.* 2014)

Mientras que en presente trabajo se evaluó la concentración mínima inhibitoria de ciprofoxacina frente a *Escherichia. coli* por el método de macrodilucion en caldo, en lo expuesto por (Acosta. L. 2015), la CMI de las quinolonas sintéticas frente a *E. coli* fueron evaluados por el método de microdilución en medio líquido utilizando placas de 96 pocillos cuya turbidez de los cultivos se evaluó en un lector ELISA a 550 nm, y de

aquellos pocillos en los que no se observó crecimiento visible, se tomaron alícuotas (100 μl) para efectuar un recuento de unidades viables. Con el fin de comparar la actividad antimicrobiana de estos compuestos, se empleó como control de referencia, la ciprofloxacina.

Así mismo las CMI determinadas en el presente estudio son menores a la CMI50 reportada en un estudio realizado por Horna *et al.* 2005 con cepas uropatógenas provenientes de pacientes de consultorio externo (8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y mucho menor a las obtenidas en pacientes hospitalizados (64 $\mu\text{g}/\text{mL}$), la diferencia se debe probablemente al origen de las cepas, que en el presente estudio fue sin enfermedad base, mientras que en el estudio referido las cepas se aislaron de pacientes con neoplasias, considerándose que las condiciones del sistema inmune de pacientes sin compromiso inmunológico permiten que los microorganismos sean controlados con mayor eficacia y tengan menor probabilidad de adquirir resistencia. Esto en cierta manera se corrobora con la marcada diferencia existente entre las CMI halladas y las obtenidas de las cepas de pacientes hospitalizados que sugiere que sus condiciones físicas están más deterioradas, esto sumado a

las mayores posibilidades de que las cepas hospitalarias adquieran resistencia a los fármacos al estar en contacto frecuente con los antimicrobianos; similar interpretación se puede dar en el caso de la CMB.

Los resultados del presente estudio, tanto para la CMI como para la CMB, se asemejan a los obtenidos por otros autores (Providencia *et al.* 2000) con suspensiones de cepas de *E. coli* sensibles a ciprofloxacina, pero difieren con los hallados en biocapas en sondas urinarias, es decir, en el primer caso, el trabajar con suspensiones bacterianas, implica un mayor contacto del producto antimicrobiano como en la presente investigación, mientras que aplicar el producto sobre biocapas supone una mayor cantidad de microorganismo y la consecuente protección de unos con otros por estar rodeados de una superficie mucoide.

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación, se observó que tanto la leche, yogurt y jugo de toronja, incrementaron la CMI de ciprofloxacina de la cepa 1 (0.02 µg/mL) y de la cepa 2 (0.32 µg/mL) de manera gradual, observándose una CMI de 0.04 µg/ml (leche y yogurt) y 0.08 µg/ml (toronja) para la cepa 1 y una CMI de 0.64 µg/ml (leche y yogurt) y 1.28 µg/ml (toronja) para la cepa 2; estos datos obtenidos

expresan lo dicho por Luque *et al.* 2012, quienes de manera textual mencionaron que los fármacos pueden ser alterados como resultado de la interacción con los nutrientes, además es de resaltar que el efecto de los nutrientes también puede verse modificado por la administración concurrente de un fármaco, es por ello que la relación fármaco-nutriente se considera bidireccional.

Dentro de este marco, se puede considerar al calcio presente en la leche, yogurt y jugo de toronja como posible responsable de la disminución del efecto antibacteriano de Ciprofloxacina, tal y como se aprecia en las tablas N° 5; N° 23 y N° 10 correspondientes a la CMI y CMB respectivamente. La afirmación anterior concuerda con lo mencionado por (Neuhofel *et al.* 2002 y Wallace *et al.* 2003) donde indican que productos fortificados con calcio reducen el efecto terapéutico de los antibióticos tales como Ciprofloxacina y Levofloxacina. De igual manera lo señalan (Tuset 2006 y Carda 2015) quienes reportaron que cationes divalentes y trivalentes (Ca²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Mg²⁺, Al³⁺) presentes en algunos nutrientes, pueden formar complejos insolubles cuando se administran de manera conjunta con las quinolonas y tetraciclinas.

Con los resultados obtenidos en el presente trabajo se demostró de manera *in-vitro*, que el jugo de toronja en comparación a la leche y yogurt, afecta en mayor medida la CMI de ciprofloxacina, esto debido al fenómeno de quelación (el cual consiste en la unión covalente del calcio con el grupo carboxilo de las quinolonas, originando quelatos metálicos insolubles en agua), mencionado por (Manzano y Moyano 2007 y por Barrera *et al.* 2009); pero no solo el calcio disminuiría el efecto de ciprofloxacina pues se ha demostrado de manera *in-vivo* que los compuestos flavonoides (naringenina, naringina y quercetina) y furanocumarinas de la toronja serían responsables de que la biodisponibilidad de los fármacos se vea disminuida, esto debido a que dichos compuestos inactivan el mecanismo transportador transmembrana P170 en el intestino y además inactivan las enzimas CYP 3A4 en el hígado y CYP 3A5 en la pared intestinal como en el hepatocito. (S. de Andrés *et al.* 2004; Politi 2009 y DIGEMID 2000). La naranja y la manzana tendrían compuestos semejantes a la naringina que provocarían el mismo efecto que el jugo de toronja. (Leighton 2008). De estas evidencias se concluye que el efecto antimicrobiano de ciprofloxacina

se puede ver disminuido ya sea por fenómenos de quelación o por inactivación de las enzimas.

Basados en los resultados obtenidos en este proyecto sobre la CMI y CMB de ciprofloxacina frente a la cepa N° 1 de *E. coli*, se determinó que ciprofloxacina puede actuar como agente bactericida al coincidir la CMI con la CMB (0.02 µg/mL) según lo observado en las tablas 5 y 10. Estos datos concuerdan con lo expuesto por un grupo de autores, quienes informaron que son pocos los antibióticos cuya CMI coincide con la CMB, ya que por lo general la CMB es superior a la CMI (Paredes y Roca 2004; Desongles *et al.* 2006), sin embargo, cabe mencionar que el comportamiento bacteriostático o bactericida de un antibiótico, estaría determinado en base a la sensibilidad que exprese la cepa en cuestión frente a un determinado antibiótico. A demás cabe mencionar que en el presente trabajo la CMI se determinó por el método de macrodilución en caldo.

Al encontrarse la concentración mínima bactericida (CMB) de cada grupo tratado (ciprofloxacina, ciprofloxacina con yogurt, ciprofloxacina con leche y ciprofloxacina con jugo de toronja), se procedió a realizar el análisis de

varianza (ANOVA) para determinar si la CMB es dependiente o no del producto empleado, determinándose que la concentración mínima bactericida de ciprofloxacina es dependiente del solvente utilizado (agua destilada, leche, yogurt, toronja); por consiguiente para identificar en que grupo o grupos se han producido las diferencias, se realizó la prueba de Tukey, revelándose que sí existen diferencias significativas entre los grupos ya mencionados, siendo la toronja la que tiene mayor poder en la disminución del efecto antimicrobiano de ciprofloxacina, porque permitió un incremento en 145 UFC/mL (0.64 ug/mL), 440 UFC/mL (0.32 ug/mL), 460 UFC/mL (0.16 ug/mL) y 3745 UFC/mL (0.08 ug/mL) en comparación con los otros grupos (ciprofloxacina, ciprofloxacina/yogurt y ciprofloxacina/leche), esto debido al fenómeno de quelación, pues la cantidad de calcio presente en los 250 ml de jugo de toronja fue de

aproximadamente 357 mg, a diferencia de los 300 mg de calcio aprox. en 250 ml de leche y los 263 mg de calcio aprox. en 250 ml de yogurt, a diferencia de (Sánchez *et al.* 2003) quienes con la finalidad de detectar variaciones de sensibilidad de cepas de *Escherichia coli* frente a nueve antibióticos seleccionados, aplicaron la prueba de chi cuadrado (χ^2), previos se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias mediante el sistema MicroScan.

De igual manera el investigador (Cusquisiban, J. 2014) con la finalidad de evaluar patrones de sensibilidad y resistencia bacteriana frente a quince antibióticos en pacientes pediátricos con Infecciones del Tracto Urinario con Urocultivos positivos en el Hospital Regional de Cajamarca de enero a diciembre 2013, aplicó la prueba de Chi cuadrado.

CONCLUSIONES

La CMI de ciprofloxacina de 500 mg frente a la cepa 1 de *E. coli* fue de 0.02 ug/ml y para la cepa 2 de *E. coli* fue de 0.32 ug/ml. La CMB frente a la cepa 1 fue de 0.02 ug/ml. La cepa 2 no creció

en ninguna de las repeticiones, no se determinó la CMB.

La leche, yogurt y jugo de toronja incrementaron la CMI de ciprofloxacina frente a *E. coli*; para la cepa 1 de *E. coli*, la leche y yogurt incrementaron la CMI a

0.04 ug/ml y la toronja a 0.08 ug/ml y para la cepa 2 de *E. coli*, la leche y yogurt aumentaron la CMI a 0.64 ug/ml y la toronja a 1.28ug/ml

Estadísticamente el yogurt y la toronja inhibieron el efecto antimicrobiano de ciprofloxacina frente a *Escherichia coli*

Referencias Bibliográficas

- Luque, A., Ballesteros, M., Calleja, A., Cano, I. y Vidal, A. (2010). Interacción entre dieta y fármacos. En D. Bellido, D. Román y P. García (Eds.), *Dietoterapia, nutrición clínica y metabolismo* (pp. 631-632). España: Díaz De Santos.
- Manzano, M. y Moyano, I. (2007). Administración de fármacos por sonda o enterostomía conjuntamente con la nutrición enteral, interacción fármaco-nutriente. En G. Oliveira (Ed.), *Manual de nutrición clínica y dietética* (p. 202). España: Díaz De Santos.
- Comisión de Arbitraje Médico del Estado de Veracruz. (2009). *Guía para la administración segura de medicamentos vía oral*. México: Área Hospitalaria Juan Ramón Jiménez Huelva.
- Neuhofel, A., Wilton, J., Victory, J., Hejmanowski, L. & Amsden, G. (2002). Lack of Bioequivalence of Ciprofloxacin when Administered with Calcium-Fortified Orange Juice: A New Twist on an Old Interaction. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42 (4), 461–466.
- Wallace, W. W., Victory, J. M., & Amsden, G. W. (2003). Lack of Bioequivalence when Levofloxacin and Calcium-Fortified Orange Juice are Coadministered to Healthy Volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 43 (5), 539–544.
- Patel, J., Cockerill III, F., Alder, J., Bradford, P., Eliopoulos, G., Hardy, D., Hindler, J., Jenkins, S., Lewis II, J., Miller, L., Powell, M., Swenson, J., Traczewski, M., Turnidge, J., Weinstein, M. & Zimmer, B. (January 2014). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing twenty-four informational supplement. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 34 (1), 1 - 230.
- Acosta, L. (2015). Infecciones urinarias: Determinación de la actividad antibacteriana de nuevas quinolonas sintéticas. Universidad De La Laguna, España.
- Sánchez, J., Guillán, C., Fuster, C., Madrid, F., Jiménez, M. y García, J. (2003). Sensibilidad microbiana de *Escherichia coli* en infecciones urinarias extrahospitalarias. *Rev. Actas Urol. Esp.* 28 (8), 588 - 593.
- Cusquisiban, J. (2014). "*Patrones de sensibilidad y resistencia bacteriana en pacientes pediátricos con infección del tracto urinario con urocultivos positivos en el hospital regional de cajamarca de enero-diciembre 2013*" (tesis licenciatura) Universidad Nacional De Cajamarca, Perú.