

Sinergia "in vitro" de Cafeína y Amoxicilina-Clavulánico

F. Hervás Maldonado¹, E. Ocón González-Aurioles², J. Molina Corzo², ML. Méndez Fernández³,
M. Mateo Maestre⁴, F. Gutiérrez Sánchez⁵

Med Mil (Esp) 2006; 62 (2): 77-79

RESUMEN

INTRODUCCIÓN. Recientemente se ha insistido acerca del poder antioxidante de la cafeína, pero hasta la fecha no se han realizado estudios sobre su posible interacción con los diversos antimicrobianos, salvo con las quinolonas. **MATERIAL Y METODOS.** Se efectúa un estudio "in vitro", valorando la respuesta a Ciprofloxacino (CP) y Amoxicilina/Clavulánico (AC) de 19 cepas de *Escherichia coli*, utilizando el método de Kirby-Bauer en agar suplementado con 0, 25, 50, 100 y 200 mg/l de citrato de cafeína. **RESULTADOS.** Se observa asociación del tamaño del halo inhibitorio de AC en relación con la cantidad de cafeína, pero no así en el caso de CP, cuyo halo no se modifica. **DISCUSIÓN.** Es razonable sospechar una posible asociación sinérgica del antimicrobiano AC con el nivel de cafeína, pero se precisan estudios más amplios, tanto "in vitro" como "in vivo", asociados a los de otros microorganismos y antimicrobianos.

PALABRAS CLAVE: Cafeína, Amoxicilina – Clavulánico, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

En los últimos tiempos viene hablándose del poder antioxidante de la cafeína^{1,2}. El empleo conjunto de xantinas con fármacos de diverso tipo, incluidas las quinolonas³, como único representante de los antimicrobianos, ha sido estudiado en las últimas décadas. Sin embargo no se ha valorado la posible sinergia de las xantinas naturales de la dieta (cafeína, teína y teobromina) con el conjunto de los antimicrobianos, especialmente con los de mayor uso, como son los betalactámicos.

La FDA considera seguro el consumo de cafeína, seguro e incluso saludable en personas sanas, sin patologías crónicas de fondo (hipertensos, neuropatas...). En 1958, la FDA incluyó la cafeína como sustancia GRAS (alimentos generalmente reconocidos como seguros), recomendando no consumir más de tres tazas diarias (unos 300 mg) de café. En 1987 y 1997, la FDA reafirma su postura. Igualmente, la American Medical Association y la American Cancer Society se han pronunciado al respecto, confirmando la seguridad del consumo moderado de cafeína. El adulto promedio no suele consumir más de 200 mg/día.

El embarazo y la vejez pueden modificar la sensibilidad de las personas frente a la cafeína, pero esta no debe ser considerada como una sustancia adictiva, como tampoco lo es el chocolate, hacer deporte o ver películas de cine negro, por ejemplo. Los niños sí pueden ser más sensibles a ella, por lo que parece razonable recomendarles el consumo de bebidas o productos descafeinados, de manera que no superen los 35-40 mg/día. En el embarazo, no hay

evidencia científica de acción lesiva de la cafeína hasta dos tazas de café diarias, pero sí puede influir sobre la gestación cuando se consumen más de cuatro o cinco tazas al día. Sin embargo, todo esto es muy relativo, pues dada su rapidez en metabolizarse, es cuestión de espaciar más de tres o cuatro horas el intervalo entre taza y taza, lo que minimiza enormemente su capacidad nociva. Por otra parte, la cafeína pasa al bebé a través de la leche materna, pero en una cantidad tan exigua que prácticamente no es valorable. Se ha probado la no asociación de la cafeína con la enfermedad fibroquística de mama o la osteoporosis. Tampoco existe evidencia científica que relacione el consumo de café, tal como se toma, en infusión, con la hipercolesterolemia. La acción sobre la hipertensión es muy ligera (inferior a subir una escalera, por ejemplo), pero sí existe. Tampoco se ha probado en más de cien estudios, que el consumo de café, en cantidad moderada, se relacione con la patología cardíaca.

Por tanto, es un producto dietético de elección para probar su posible acción sinérgica con diversos fármacos, entre otros los antimicrobianos. Solo existe referencia de un ensayo, en 1965, al respecto⁴.

MATERIAL Y MÉTODOS

Elegimos diecinueve cepas de *Escherichia coli*, procedentes de muestras biológicas (urocultivos), en las que previamente se habían detectado resistencia o merma de sensibilidad (sensibilidad intermedia) a Ciprofloxacino (CP) y/o Amoxicilina/Clavulánico (AC). Dichas cepas fueron sembradas en Medio de Mueller-Hinton (MH) con y sin enriquecimiento de citrato de cafeína (trimetilxantina), incubándolas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 24 horas, añadiéndoles discos de antibiograma de Amoxicilina-Clavulánico y de Ciprofloxacino –para cada cepa– de la forma siguiente:

- 2 placas de MH sin adición de cafeína.
- 3 placas de MH adicionadas de 25 mg/litro de cafeína, dos de ellas con discos de CP y AC cada una y una tercera, para control de crecimiento, sin discos.
- 3 placas de MH con 50 mg/litro de cafeína, dos con discos y una sin ellos.

¹ Teol. Médico

² Técnico Superior de Laboratorio de Diagnóstico Clínico.

³ Farmacéutica.

⁴ Cap. Médico.

⁵ Cte. Médico.

Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Central de la Defensa "Gómez Ulla".

Dirección para correspondencia: F. Hervás Maldonado. Servicio de Microbiología. Hospital Central de la Defensa "Gómez Ulla". Glorieta del Ejército s/n. 28047 Madrid.

Recibido: 19 de enero de 2006

Aceptado: 21 de junio de 2006

- 3 placas de MH con 100 mg/litro de cafeína, dos con discos y una sin ellos.
- 3 placas de MH con 200 mg/litro de cafeína, dos con los discos de CP y AC, y una tercera sin ellos, igualmente para control de crecimiento, como en los casos anteriores.

La lectura e interpretación, así como la siembra, se hizo de acuerdo con el procedimiento de Kirby-Bauer⁵, tal como se indica en la ASM (American Society for Microbiology).

La composición del agar de Mueller-Hinton fue:

- Infusión de carne de vaca 300,0 g
- Casaminoácidos, técnico 17,5 g
- Almidón 1,5 g
- Agar 17,0 g

por litro de agua purificada, ajustando pH final a 7,3 ± 0,1, tal como se indica en el protocolo MS NCCLS.

Los discos empleados fueron los BD Sensi-Disc®, de Becton Dickinson, empleando para AC los de 20/10, siendo, según las normas NCCLS del 2004, para AC:

- R: ≤13 mm
 - I: 14-17 mm
 - S: ≥18 mm
- cuyo equivalente en CIM (breakpoints $\dot{I}g/mL$) era:
- R: ≥32/16
 - S: ≤8/4

El tratamiento estadístico de los datos se efectuó con el programa Statgraphics plus 5.1 (SGWIN 5.1).

El control de calidad siguió los criterios que se indican:

- Crecimiento abundante en todas las placas, con y sin cafeína.
- Crecimiento de una sola cepa en cada placa.
- Identificación paritaria en las cepas crecidas en todas las placas, seleccionando placas de comprobación aleatoriamente (una por cepa).

RESULTADOS

Ninguna de las cepas testadas modificó el halo de sensibilidad a CP, mientras que en el caso de AC, la sensibilidad reveló un halo creciente (Tablas I y II), de manera que a mayor cantidad de cafeína, mayor halo de inhibición. El tratamiento estadístico nos reveló

Tabla 1. Halo de inhibición de AC (mm de diámetro).

Cepa	n°	MH AC	MH25- AC	MH25- AC	MH50- AC	MH50- AC	MH100- AC	MH100- AC	MH200- AC	MH200- AC
COLI 1						14		15	14	
COLI 3	15		19	19	19	19	19	19	18	18
COLI 4										
COLI 5	22	22	21	23	22	25	24	24	24	24
COLI 7	16	18	19	16	16	19	19	20	17	
COLI 8	16	17	17	16	16	17	18	17	18	
COLI 9										14
COLI 10	19	19	19	20	20	20	21	20	20	
COLI 11		16		15		17	16	16	17	
COLI 13	19	21	20	22	20	21	21	21	22	
COLI 14	15	15	15	16	17	16	16	16	17	
COLI 15	18	17	17	19	19	19	18	21	21	
COLI 16	15	15	16	18	17	18	20	19	20	
COLI 17	16	17	17	18	20	20	19	18	20	
COLI 18	16	16	18	18	17	17	17	17	17	
COLI 19	17	19	20	17	19	18	19	20	20	
COLI 21	19	19	19	21	20	19	19	20	19	
COLI 23	16	17	18	18	18	18	18	19	19	
COLI 24	17	18	18	21	21	23	21	21	21	

Tabla 2. Los halos de CP no se modificaron.

Cepa	n°	MH CP	MH25- CP	MH25- CP	MH50- CP	MH50- CP	MH100- CP	MH100- CP	MH200- CP	MH200- CP
COLI 1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
COLI 3	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
COLI 4	40	40	40	40	40	40	40	38	38	
COLI 5	9	9	9	10	10	10	10	10	10	
COLI 7	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 9	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 10	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 11	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 13	11	9	9	9	9	9	9	6	6	
COLI 14	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 15	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 16	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 17	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 18	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 19	6	6	6	7	6	6	6	6	6	
COLI 21	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 23	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
COLI 24	6	6	6	6	6	6	6	6	6	

una agrupación indefinida por cepas (Fig. 1), mientras que, por el contrario, se agrupaban de modo casi perfecto según el contenido de cafeína (Fig. 2), evidenciados ambos aspectos mediante análisis de conglomerados (método de Ward), utilizando cuadrados euclidianos como base de agrupamiento. En el gráfico de cajas y bigotes (Fig. 3),

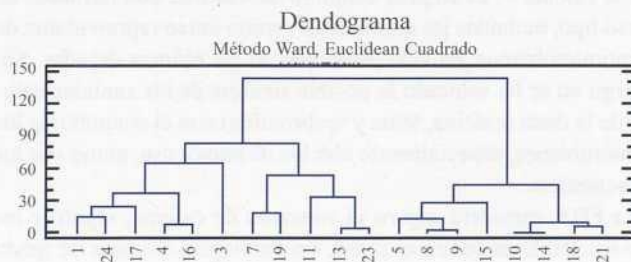


Figura 1. Agrupamiento de cepas. Método de Ward.

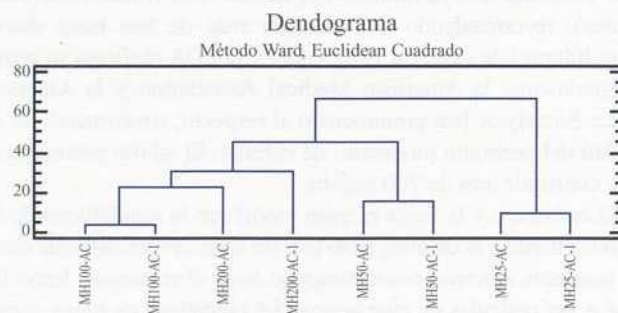


Figura 2. Agrupación de respuesta según contenido de cafeína.

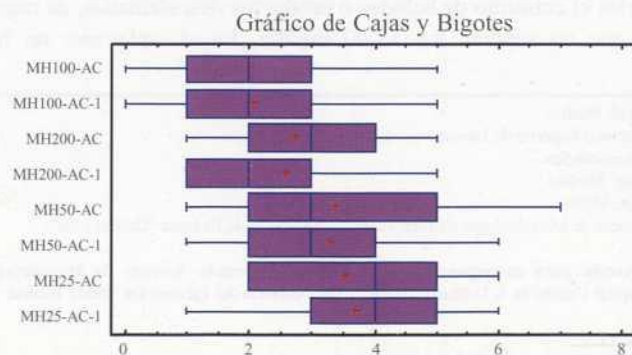


Figura 3. Aumento de respuesta en relación con aumento de cafeína.

de AC, observamos un desplazamiento claro de la respuesta en sentido creciente, es decir: a más cafeína, mayor halo. Esto mismo se observa en el gráfico de medias y en el de análisis de medias (Fig. 4). Por último, el gráfico de distancia de aglomeración nos revela un aumento progresivo, casi logarítmico, de la fase (Fig. 5). El modelo predictivo ARMA nos revela un retardo creciente de las autocorrelaciones en las placas de MH-25mg, pero no así en las de 50, 100 y 200 mg, lo que invita a pensar en la posible influencia de la cafeína sobre el halo en relación con la cantidad añadida de la misma. La curva de potencia se incrementa en relación con el aumento de la media verdadera, es decir, con la cantidad de cafeína, lo que indica que a más cafeína, mayor probabilidad de que el crecimiento del halo no sea imputable al azar.

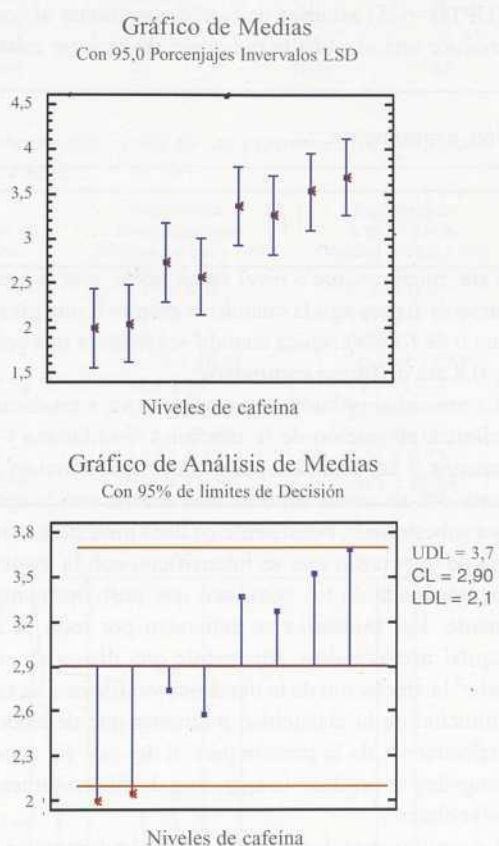


Figura 4. Valoración conjunta de respuesta.

DISCUSIÓN

Parece sobradamente conocido el poder antioxidante de la trimetil-xantina (cafeína), pero lo que no se ha estudiado hasta la fecha—al menos con el rigor que es menester—es la interacción de la cafeína y los antimicrobianos. Varias preguntas surgen al respecto:

1ª) ¿A qué antimicrobianos potencia la cafeína y cual es su expresión farmacocinética y/o farmacodinámica?. La verdad es que tenemos sospechas de que dicha potenciación se puede producir en betalactámicos, pero no es un hecho suficientemente probado, por el momento^{6,7}. Ahora bien, tampoco es algo descartable. Simplemente, no se ha estudiado aún.

2ª) ¿Caso de existir la sinergia, sucede igual "in vivo" que "in vitro"? Tampoco lo sabemos, aunque es de suponer que, dadas nuestras circunstancias metabólicas y la probada acción antioxidante de la cafeína, parece razonable pensar que "in vivo" será mayor la sinergia, si es que existiese^{8,9}.

3ª) ¿Es mayor la sinergia con la cafeína añadida al fármaco¹⁰ que tomada de forma natural (infusiones, etc)? Parece lógico pensar que la forma natural es más eficaz, fundamentalmente por su mayor capacidad de absorción, unida a una más sencilla biodisponibilidad. La servidumbre es la necesaria combinación en el tiempo de los niveles tisulares de ambas sustancias: fármaco y xantina.

Podríamos efectuar más reflexiones, como si dicha actuación es pareja en cualquier microorganismo sensible o no, si el lugar de la infección condiciona su empleo y vía de administración, su actuación tópica en abscesificaciones, etc, etc.

Sin embargo, lo más importante no es esto. Tal vez, lo que debemos considerar es la valoración integral de aportes dietéticos en el tratamiento de las infecciones. ¿Condiciona la dieta el valor efectivo de cualquier terapia antimicrobiana?. Esa es la cuestión y el reto, para una línea futura de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Nahata MC, Zingarelli JR, Durrell DE. Stability of caffeine injection in intravenous admixtures and parenteral nutrition. DICP, 1989; 23(6): 466-7.
- Real Farmacopea Española. 1997; 554-5.
- Fuhr U, Anders EM, Mahr G, Sörgel F, Staib AH. Inhibitory potency of quinolone antibacterial agents against cytochrome P450IA2 activity in vivo and in vitro. Antimicrob Agents Chemoter, 1992; 36(5): 942-8.
- Raj S, Dhala S. Effect of naturally occurring xantines on bacteria. Appl Microbiol, 1965; 13(3): 432-6.
- Isenberg HD. Clinical microbiology procedures handbook. ASM, Washington, 1995, vol 1, sec 5.
- Jonkman JH, van der Boon WJ, Schoenmaker R, Holtkamp AH, Hempenius J. Clinical pharmacokinetics of amoxicillin and theophylline during cotreatment with both medicaments. Chemotherapy, 1985; 31(5): 329-335.
- Matera MG, Cazzola M, Lampa E, Santangelo G, Paizis G, Vinciguerra A, Rossi F. Clinical pharmacokinetics of theophylline during co-treatment with ticarcillin plus clavulanic acid in patients suffering from acute exacerbation of chronic bronchitis. J Chemoter, 1993; 5(4): 233-6.
- Wolfson JS. Quinolone antimicrobial agents: adverse effects and bacterial resistance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1989; 8(12): 1080-1092.
- Davies BI, Maesen FP. Drug interactions with quinolones. Rev Infect Dis, 1989; 11 suppl 5: s1083-1090.
- Mehmedagic A, Verite P, Menager S, Tharasse C, Chabenat C, Andre D, Lafont O. Investigation of the effects of concomitant caffeine administration on the metabolic disposition of pyrazinamide in rats. Biopharm Drug Dispos, 2002; 23(5): 191-5.

Figura 5. Distancia de aglomeración. Se observa crecimiento progresivo de la fase, lo que indica un crecimiento del halo inhibidor, igualmente progresivo.