

Efecto antifúngico de emulsiones a base de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*), contra *Candida albicans*

López-Rivera RJ. (1), Espinosa-Andrews, H. (3), García-Márquez, E. (4), Herrera-Rodríguez, SE. (2)

(1) Maestría en Ciencias en Innovación Biotecnológica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ). (2) Investigador Titular, CIATEJ Unidad Biotecnología Médica y Farmacéutica. (3) Investigador Titular, CIATEJ, Unidad Tecnología alimentaria. (4) Investigador Titular, CIATEJ, Unidad Noreste

Resumen

Candida albicans es uno de los patógenos más comunes en los seres humanos, puede ser responsable de infecciones en hospederos inmunosuprimidos. Representa un serio problema en el sector salud, ya que al ser una de las principales infecciones nosocomiales, retarda la recuperación del paciente en ser dado de alta y genera más gasto económico. Aunado a esto, el creciente desarrollo de resistencia por parte de este hongo a los fármacos comúnmente utilizados (derivados de los azoles) ha generado la necesidad de encontrar otras alternativas naturales que sean capaces de combatir este microorganismo, sin los efectos secundarios no deseados que ocasionan los antifúngicos actuales. **Objetivo:** Evaluar el efecto inhibitorio de tres emulsiones distintas con aceite esencial de orégano mexicano, *Lippia graveolens*, contra el patógeno oportunista *Candida albicans*. **Método:** Evaluación del efecto inhibitorio de tres emulsiones distintas mediante la técnica de Kirby-Bauer. **Resultados:** Las tres emulsiones mantuvieron un efecto inhibitorio contra *C. albicans*, siendo la emulsión con la matriz de goma arábiga la que presentó el halo de inhibición más grande. Los controles sin el bioactivo no presentaron halo de inhibición. **Conclusiones:** Emulsiones de aceite de orégano mexicano *Lippia graveolens*, con goma arábiga, pueden ser una alternativa contra *C. albicans* ante la resistencia que llega a desarrollar esta levadura contra los fármacos antimicóticos.

Palabras clave: *Candidiasis*, aceite de orégano mexicano, emulsiones

Abstract

Candida albicans is one of the most common opportunistic pathogen in humans, it can be responsible for infection in immunosuppressed hosts. It represents a serious problem in the health sector, as it is one of the main nosocomial infections, delaying the recovery of the patient and increasing the economic expenses. In addition, the development of resistance by this fungus to the commonly used drugs (derived from azoles) has generated the need to find other natural alternatives that are capable of combating this microorganism, without the undesired side effects that cause them Antifungal agents. **Objective:** Evaluate inhibitory effect of three different emulsions with *Lippia graveolens* (Mexican oregano), essential oil against opportunistic pathogen *Candida albicans*. **Method:** Evaluation of inhibitory effect of three different emulsions by the Kirby-Bauer technique. **Results:** All emulsions keep inhibitory effect against *Candida albicans*, being the emulsion with the Arabic gum matrix, the one with the largest inhibition halo. **Conclusions:** Arabic gum emulsions of *Lippia graveolens* oil could be an alternative to some antifungal drugs to which *Candida albicans* has developed resistance.

Keywords: *Candidiasis*, Mexican oregano oil, emulsions

Introducción

Candida albicans es un hongo perteneciente al género de los ascomicetos, se encuentra en distintas partes del cuerpo humano, como: aparato gastrointestinal, vagina, piel y cavidad oral, entre otras, tanto de manera superficial como internamente. Es el principal microorganismo comensal que se encuentra en la boca (75%) seguido de *C.tropicalis* (8%) y *C.krusei* (3-6%) (Aveldañez et al., 2008).

Es considerado como un patógeno oportunista, ya que a pesar de que subsiste en equilibrio con otros microorganismos, principalmente en la cavidad oral, existen factores que pueden desequilibrar la microflora, cambiando el estado de una persona sana a una persona infectada por *C.albicans* (Aveldañez et al., 2008; Lynch, 1994). Las infecciones ocasionadas por este hongo se les denomina candidiasis, sus manifestaciones clínicas pueden dividirse como superficiales (cutánea, mucocutánea) y sistémicas (candidiasis invasiva, candidiasis sistémica). El primer caso ocurre con mayor frecuencia, pero no atenta contra la vida del paciente, a diferencia de las sistémicas donde se presentan mayores riesgos debido a que afecta a personas con severas deficiencias en el sistema inmune.

Los factores que predisponen a adquirir candidiasis se han clasificado como factores naturales (infecciones, diabetes, alteraciones endocrinas), factores de dieta (alto consumo de carbohidratos, deficiencias vitamínicas), factores mecánicos (uso de dentaduras) y factores iatrogénicos (ingesta agentes inmunosupresores), (Aveldañez et al., 2008) (Lynch, 1994)

Por otra parte, *Candida albicans* es la sexta causa más común de las infecciones nosocomiales, lo que retarda la recuperación de pacientes y por ende incrementa los costos en los sistemas de salud (Sardi, Pitanguí, Gullo, Almeida, & Giannini, 2013). El grado de severidad de este tipo de infección fúngica, va en función de la incapacidad del sistema inmune de un individuo para limitar el proceso infeccioso, de los factores de virulencia del hongo y de las condiciones del microambiente en que se lleva a cabo la interacción hospedero-parasito (F. Hernández et al., 2003) .

Las personas que padecen diabetes *mellitus* son altamente susceptibles a infecciones por *Candida* (Estrada, Marquez, Diaz, & Agüero, 2015), debido a la reducción de resistencia inmunológica y a los altos contenidos de glucosa que sirve de sustrato para la levadura. Otros factores (relacionadas con un sistema inmunosuprimido) que favorecen la sobre población por *Candida* son: el uso indiscriminado de antibióticos y esteroides, trasplante de médula ósea, catéteres venosos, drogadicción, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), entre otros (F. Hernández et al., 2003). Se ha reportado, que en particular la colonización por *C.albicans*

en la cavidad oral es más habitual en las personas mayores, sin embargo los neonatos también pueden llegar a padecer este tipo de infecciones (16%). La prevalencia aumenta durante los primeros 18 meses de vida (44%), y disminuye durante la infancia (6%), para volverse a incrementar en la edad adulta y senectud (Otero, Peñamaría, Rodríguez, & Martín, 2015).

Actualmente existen antimicóticos, derivados de los triazoles, tal como ketonoconazol, fluconazol y miconazol, entre otros. En la mayoría de estos fármacos, el mecanismo de acción consiste en la inhibición de la actividad de la enzima lanosterol 14- α- demetilasa, la cual se encuentra involucrada en la biosíntesis de ergosterol, el componente estructural más abundante en la membrana celular del hongo. Sin embargo, se ha reportado que diversas especies de *Candida* (*C.albicans*, *C.krusei*, *C.tropicalis*, *C.glabrata*) han desarrollado resistencia a ciertos azoles, por lo que se requiere buscar nuevos compuestos que tengan potencial de combatir este problema, sin que se genere resistencia o algún otro efecto secundario.

En la actualidad se conocen alrededor de 3000 aceites esenciales, del cual sólo el 10% tienen un impacto comercial en la industria alimentaria, agronómica, cosmética y farmacéutica, entre otras. Los componentes de los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas que pueden ser separados físicamente del tejido membranoso. Tradicionalmente, los aceites esenciales han sido utilizados como bactericidas, fungicidas, antiparasitarios, e insecticidas. Otras, aplicaciones medicinales son: analgésicos, antiinflamatorios y espasmolíticos, entre otros (Bilia et al., 2014). Sin embargo, el carácter lipofílico de los aceites esenciales, dificulta su administración para ser utilizado como agentes antimicrobianos. La nano encapsulación de los aceites esenciales permite modular la liberación de los compuestos, incrementa la estabilidad física, lo protege de las interacciones con el medio ambiente, aumenta la bioactividad y mejora la aceptabilidad por el paciente.

Uno de los aceites esenciales efectivos para el control antimicrobiano, es el de orégano, su efecto se atribuye principalmente a sus componentes mayoritarios timol y carvacrol (Bhargava, Conti, da Rocha, & Zhang, 2015). En particular, el aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*) se ha evaluado directamente sobre microrganismos como *A.alternata*, *E.coli*, *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *S.epidermidis* (Nostro et al., 2017; Rodriguez et al., 2016; Salgueiro, Cavaleiro, Goncalves, & Proenca, 2003).

Poco se encuentra reportado sobre la evaluación de emulsiones a base de aceite de *Lippia graveolens*. El potencial

inhibitorio de esas emulsiones se ha probado contra *Salmonella*, *Brochothrix thermosphacta*, *P. fragi*, *Lactobacillus plantarum*, *Microoccus luteus* (Arana et al., 2010; E. Hernández, Regalado, Vázquez, Guerrero, & García, 2014).

Material y Métodos

Para evaluar el efecto inhibitorio contra *Candida albicans*, de tres emulsiones distintas con aceite de orégano mexicano, se realizó un experimento de antibiograma disco-placa. A partir de un pre-inoculo de 16 horas (37°C y 250 rpm), se tomó una alícuota, respetando una relación 1:250 y se inoculó caldo YPD nuevo y estéril. Se incubó nuevamente a 37°C y 250 rpm, hasta alcanzar un valor de densidad óptica igual a 0.2, a partir de esta suspensión se sembró por extensión superficial un volumen de 50ul en agar YPD, inmediatamente después se colocaron discos de papel filtro previamente esterilizados e impregnados con las distintas emulsiones. La formulación de las emulsiones consistió en una fase oleosa al 10% formada por aceite de *Lippia graveolens* y aceite mineral (triglicérido caprílico), agua destilada más un surfactante (goma arábica, polisorbato 80 y lecitina hidroxilada) el cual fue distinto para

cada emulsión evaluada. En función de los componentes de la emulsión, se incluyó un control de la emulsión sin el bioactivo (aceite de *Lippia graveolens*), el aceite mineral solo y otro sin tratamiento.

Resultados y Discusión

La tabla 1, muestra el diámetro de inhibición de cada una de las emulsiones evaluadas. Todas presentaron un efecto inhibitorio, siendo la formulación con goma arábica la que resultó ser más eficiente, con un diámetro de inhibición de 11.75 mm.

Reportes de la literatura, correlacionan el tamaño de partícula con un efecto biológico mejorado (Donsi & Ferrari, 2016), sin embargo, en ese experimento se pudo observar que el potencial inhibitorio no se dio en función del tamaño de partícula, sino de la matriz utilizada, ya que las tres emulsiones consistieron en la misma formulación a excepción de la pared encapsulante. En la figura 1 se muestran las placas con los halos de inhibición de cada uno de los tratamientos.

Fig 1.

Ensayo halos de inhibición de las emulsiones (GA, T80, LecH) contra *C. albicans*

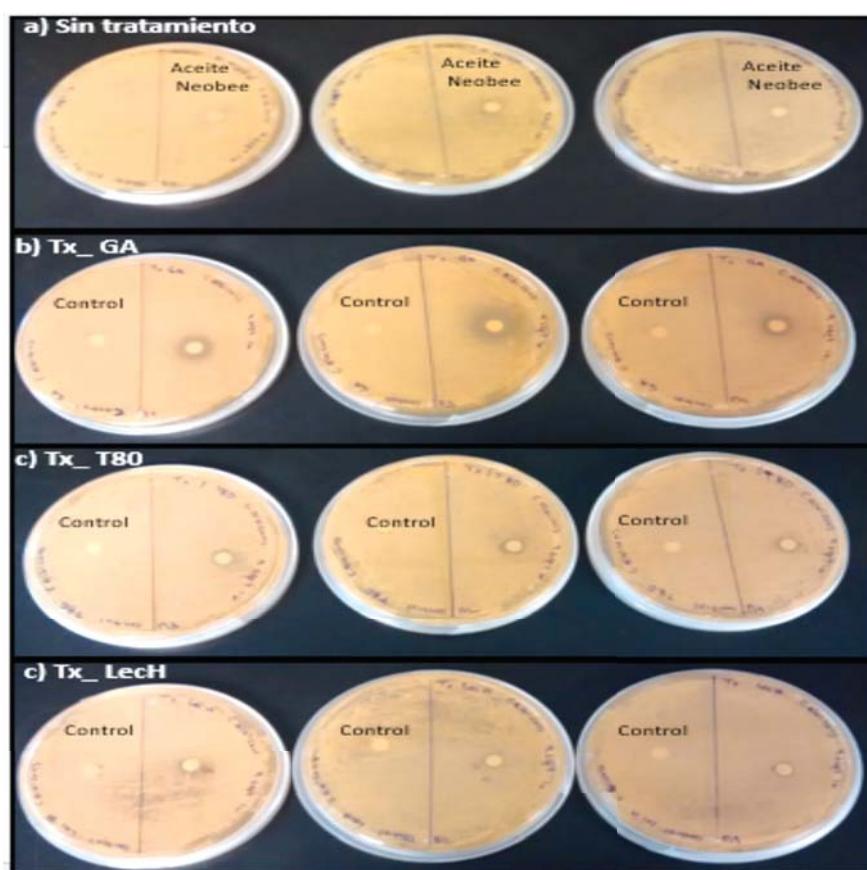


Tabla 1.

Halos de inhibición de las emulsiones (GA, T80, LecH) contra *C. albicans*

Tratamiento	Tamaño partícula (nm)	Tamaño del halo de inhibición (mm)
Tx_GA	1575	11.75
Tx_LecH	179.6	7
Tx_T80	144.1	8
Aceite mineral	-	0

Los datos están reportados como la media de la zona de inhibición (mm) con tres replicas. Como control negativo se utilizó aceite neobee. Diámetro del disco= 6mm; 0= no inhibición

Conclusiones

Con los resultados obtenidos fue posible verificar el potencial antifúngico contra *C. albicans* del aceite esencial de orégano mexicano encapsulado en tres distintas matrices poliméricas. Las propiedades de cada una de las emulsiones, como el tamaño de partícula y el material emulgente, brindan la posibilidad a estas formulaciones de ser aplicadas en distintos productos que puedan ser fácilmente administrados en un paciente para combatir infecciones ocasionadas por *C. albicans*.

Correspondencia: sherrera@ciatej.mx

Referencias bibliográficas

1. Arana, A., Estarrón, M., Obledo, E. N., Padilla, E., Silva, R., & Lugo, E. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin. *Letters in Applied Microbiology*, 50(6), 585–590. <http://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02837.x>
2. Aveldañez, A. J., Pérez, F. H., Herrera, E. M., Angélica, A., Carreón, R., & Guzmán, R. A. (2008). Portadores de *Candida* en la mucosa oral: tipificación de 35 cepas con CHROMagar *Candida*, 24(4), 262–266.
3. Bhargava, K., Conti, D. S., da Rocha, S. R. P., & Zhang, Y. (2015). Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. *Food Microbiology*, 47, 69–73. <http://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.007>
4. Bilia, A. R., Guccione, C., Isacchi, B., Righeschi, C., Firenzuoli, F., & Bergonzi, M. C. (2014). Essential oils loaded in nanosystems: A developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. <http://doi.org/10.1155/2014/651593>
5. Donsì, F., & Ferrari, G. (2016). Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology*, 233, 106–120. <http://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>
6. Estrada, G., Marquez, M., Diaz, J., & Agüero, L. (2015). Candidiasis bucal en pacientes con diabetes mellitus, 19(11), 1317–1324.
7. Hernández, E., Regalado, C., Vázquez, P., Guerrero, I., & García, B. E. (2014). Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* H.B.K.) and European (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. *Scientific World Journal*. <http://doi.org/10.1155/2014/641814>
8. Hernández, F., Córdova, E., Manzano, P., López, R., Bazán, E., & López, R. (2003). Frecuencia de micosis en pacientes inmunosuprimidos de un hospital regional de la Ciudad de México. *Salud Pública de México*, 45(6), 455–460. <http://doi.org/10.1590/S0036-36342003000600005>
9. Lynch, D. P. (1994). Oral candidiasis. History, classification, and clinical presentation. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 78(2), 189–193. [http://doi.org/10.1016/0030-4220\(94\)90146-5](http://doi.org/10.1016/0030-4220(94)90146-5)
10. Nostro, A., Roccaro, A. S., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F. C., ... Blanco, A. R. (2017). Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms, (2007), 519–523. <http://doi.org/10.1099/jmm.0.46804-0>
11. Otero, E., Peñamaría, M., Rodríguez, M., & Martín, B. (2015). Candidiasis oral en el paciente mayor. *Avances En Odontostomatología*, 31(3), 135–148. <http://doi.org/10.4321/S0213-1285201500300004>
12. Rodriguez, I., Cruz, M. R., Silva, B. A., Gonzalez, G. A., Moctezuma, E., Gutierrez, M. M., ... Ayala, J. F. (2016). Oregano (*Lippia graveolens*) essential oil added within pectin edible coatings prevents fungal decay and increases the antioxidant capacity of treated tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, (January). <http://doi.org/10.1002/jsfa.7568>
13. Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Goncalves, M., & Proenca, A. (2003). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Med*, 69, 80–83.
14. Sardi, J., Pitangui, N., Gullo, F., Almeida, A., & Giannini, M. (2013). A Mini Review of *Candida* Species in Hospital Infection: Epidemiology, Virulence Factor and Drugs Resistance and Prophylaxis. *Tropical Medicine & Surgery*, 1(5), 1–7. <http://doi.org/10.4172/2329-9088.1000141>