

OLI ESSENZIALI: POTENZIALI CANDIDATI PER IL TRATTAMENTO ANTIFUNGINO?

Francesca Mondello (a, b*), Maura Di Vito (c)

(a) Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali, Roma

(b) Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(c) Dipartimento di Scienze Biotecnologiche di Base, Cliniche Intensivologiche e Perioperatorie, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Introduzione

Le infezioni fungine rappresentano un problema crescente in tutto il mondo in quanto contribuiscono sostanzialmente alla morbilità e alla mortalità umana (CDC, 2019).

Purtroppo l'impatto di queste malattie sulla salute umana è ancora un argomento trascurato, nonostante la richiesta di attenzione da parte dei ricercatori e delle autorità del campo della salute pubblica.

I dati riguardanti la prevalenza e l'incidenza delle infezioni fungine sistemiche e mucosali sono difficili da reperire per scarsa "performance" dei test diagnostici e per carenza di regolari sistemi di sorveglianza nazionale, in quanto non sono malattie notificabili. Si hanno solo delle indagini pubblicate su riviste internazionali dalle quali si può evincere che le infezioni sistemiche fungine, soprattutto quelle causate da *Candida* e da *Aspergillus* spp., in minore entità da *Cryptococcus* spp. e pochi altri funghi filamentosi costituiscono gravi infezioni nei soggetti normali e soprattutto in quelli immunocompromessi.

Quindi, attualmente, la ricerca sulla fisiopatologia delle infezioni fungine umane è molto in ritardo rispetto a quella delle infezioni causate da altri agenti patogeni, nonostante ci sia urgente necessità di test diagnostici efficienti, di nuovi farmaci e di vaccini sicuri ed efficaci (Brown, 2012).

Ci sono milioni di specie fungine in natura, ma solo poche centinaia di esse risultano patogene per l'uomo (Horn, 2012; CDC, 2019).

In generale le infezioni fungine gravi si verificano come conseguenza di altri problemi di salute tra cui asma, AIDS, cancro, trapianto di organi, terapie con corticosteroidi e attualmente anche con la malattia da coronavirus SARS-CoV-2 (COVID-19) (CDC, 2021a; Lahmer, 2021).

Le infezioni fungine umane possono essere classificate in base al livello di penetrazione e diffusione dell'agente infettante nei tessuti e alle caratteristiche specifiche del microrganismo in: micosi superficiali, micosi cutanee, micosi sub-cutanee, micosi opportunistiche, micosi sistemiche e/o profonde (Mondello, 2008).

Cenni di epidemiologia

Le infezioni fungine colpiscono oltre un miliardo di persone, con tassi di mortalità stimati in 1-2 milioni di persone all'anno (Brown, 2012). In particolare, in un articolo di Bongomin del 2017, si stima che quasi un miliardo di persone abbiano infezioni fungine della pelle, delle unghie

* in quiescenza dal 1° luglio 2020

e dei capelli, molte decine di milioni presentino candidosi mucosali e più di 150 milioni di persone abbiano gravi malattie fungine con un impatto importante sulla loro vita o fatali. La gravità varia da infezioni muco-cutanee e asintomatiche lievi a infezioni sistemiche potenzialmente letali. Inoltre, la mortalità associata a malattie fungine risulta maggiore di 1,6 milioni di persone per anno, paragonabile a quella della tubercolosi e 3 volte maggiore rispetto a quella della malaria. Le caratteristiche socio-economiche, geo-ecologiche e il numero crescente di popolazioni a rischio sono i principali determinanti delle variazioni sull'incidenza e sulla prevalenza delle malattie fungine nel mondo (Bongomin, 2017).

Sebbene l'epidemiologia delle malattie fungine sia notevolmente cambiata negli ultimi decenni, le specie di *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Pneumocystis jirovecii*, e i funghi dimorfici endemici come *Histoplasma capsulatum* e *Mucormycetes* (CDC, 2021b) rimangono i principali patogeni responsabili della maggior parte dei casi di malattie fungine gravi. *Candida albicans* è il principale agente responsabile delle infezioni mucosali, *Aspergillus fumigatus* per la maggior parte delle infezioni fungine allergiche e *Trichophyton* spp., in particolare *T. rubrum*, per le infezioni della pelle.

Tra le infezioni fungine invasive potenzialmente letali in tutto il mondo prevalgono (Brown, 2012):

- Criptococcosi (*Cryptococcus neoformans*) con più di un 1.000.000 di casi/anno e tasso di mortalità dal 20 al 70%;
- Candidosi (*Candida albicans*) con più di 400.000 casi/anno e tasso di mortalità dal 46 al 75%;
- Pneumocistosi (*Pneumocystis jirovecii*) con più di 400.000 casi/anno e tasso di mortalità dal 20 all'80%;
- Aspergillosi (*Aspergillus fumigatus*) con più di 200.000 casi/anno e tasso di mortalità dal 30 al 95%.

Oltre l'80% dei pazienti potrebbe essere salvato dalla morte se si avessero a disposizione diagnosi fungine efficaci e agenti antimicotici potenti non tossici.

Purtroppo l'accertamento diagnostico tempestivo e la gestione di infezioni fungine gravi è sempre una grossa sfida, soprattutto in contesti con risorse limitate, poiché molti test diagnostici convenzionali sono lenti e il trattamento antifungino è spesso costoso e /o tossico e non ugualmente disponibile in tutti i Paesi. Altri fattori che influiscono sull'esito della malattia includono la "compliance" del paziente al trattamento a lungo termine, le interazioni farmaco-farmaco, l'esperienza clinica limitata e la comorbilità che riducono il potenziale di sopravvivenza e cura (Bongomin, 2017).

Resistenza ai farmaci antifungini

Il successo clinico per le infezioni fungine invasive, associate ad alta mortalità, richiede quindi una diagnosi precoce e un'efficace terapia antifungina. Attualmente, le opzioni antifungine per il trattamento delle malattie fungine sono ancora limitate. Inoltre, sussiste il grave problema della tossicità del farmaco a causa della comune struttura eucariotica delle cellule fungine e animali. Nell'ultimo decennio, lo sviluppo di farmaci meno tossici ha portato a un maggiore uso di tali rimedi in termini di profilassi, terapia ripetuta o a lungo termine, ma ovviamente ha portato anche alla comparsa di resistenza alla terapia.

Allo stesso modo, l'esposizione a fungicidi in agricoltura con identici bersagli molecolari a quelli degli antifungini sistemici ha selezionato serbatoi ambientali di organismi resistenti nelle specie di *Aspergillus* e questi ceppi resistenti si stanno diffondendo a livello globale.

Il grosso problema attuale è quindi la crescente resistenza ai farmaci tra i funghi. Secondo quanto riportato nell'articolo di Karpinsky del 2020, tra le specie *Candida* e *Aspergillus* è stata

osservata resistenza agli azoli, per esempio fluconazolo, voriconazolo e posaconazolo. Alcune specie di *Candida*, in particolare *C. glabrata* e *C. parapsilosis*, possono essere sia resistenti a echinocandine, sia multiresistenti. È stata segnalata resistenza acquisita alle echinocandine anche per i lieviti *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae* e *C. dubliniensis*. Più del 3% degli isolati di *Aspergillus fumigatus* sono resistenti a uno o più azoli. La resistenza ai polieni riguarda principalmente l'amfotericina B.

La resistenza a questo farmaco è stata osservata in *Fusarium* spp., *Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp. e *Sporothrix schenckii*. È stata rilevata resistenza all'amfotericina B anche per *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. È da segnalare come nuovo problema epidemiologico la multiresistenza di *C. auris*, un lievito descritto per la prima volta in Giappone nel 2009. Recentemente, la presenza di *C. auris* è stata segnalata da 36 Paesi di sei continenti. Circa il 30% degli isolati mostra una ridotta suscettibilità all'amfotericina B e il 5% può essere resistente alle echinocandine. La mortalità stimata per fungemia da *C. auris* varia dal 28% al 60% (CDC, 2021c; ECDC, 2018).

Per riassumere, per poter superare problematiche come: gli effetti tossici delle terapie convenzionali antifungine; la scarsità di farmaci efficaci; l'elevato costo dei farmaci e della assistenza sanitaria; il crescente fenomeno della resistenza agli antifungini, in particolare nei pazienti immunocompromessi c'è l'assoluta urgente necessità di introdurre nuove strategie terapeutiche integrative o di supporto alle terapie antifungine note, che impieghino molecole sicure, efficaci ed economiche.

Oli Essenziali (OE)

Un notevole interesse si è riscontrato nell'ultimo ventennio per l'uso terapeutico di sostanze naturali, soprattutto di origine vegetale, in diverse patologie infettive, incluse quelle fungine, come potenziali candidati per la prevenzione e il trattamento di infezioni microbiche (Salam, 2018; Mondello, 2015).

Tra le varie sostanze naturali la letteratura scientifica ha da tempo evidenziato negli Oli Essenziali (OE) peculiari caratteristiche in termini di biodegradabilità, di esigua tossicità e di ampio spettro di attività biologiche, tra cui una potente attività antimicrobica. Gli OE sono complesse miscele di sostanze vegetali volatili estratte da piante aromatiche e come tali sono parti integranti della fitoterapia, medicina complementare riconosciuta dalla World Health Organization (WHO) e in Italia, secondo accordo del 13 febbraio 2013 tra Stato e Regioni.

La Farmacopea Europea (*European Pharmacopoeia Commission*, 10° edizione, 2021) definisce gli OE come: "Prodotti odorosi, solitamente di composizione complessa, ottenuti da una materia prima vegetale botanicamente definita, attraverso distillazione in corrente di vapore, distillazione a secco o un appropriato processo meccanico senza riscaldamento".

Gli OE sono di solito separati dalla fase acquosa attraverso un processo fisico che non influenza significativamente la loro "composizione".

Ai fini della qualità degli OE sono assolutamente necessari i seguenti requisiti: identità, sicurezza, efficacia. L'identità di un OE richiede la conoscenza della specie botanica che è stata utilizzata per il suo ottenimento e la definizione dei composti che ne caratterizzano la composizione chimica (*marker*, chemotipo).

L'aspetto della sicurezza d'impiego dipende sempre dalla composizione chimica e dall'attenta individuazione della concentrazione dei vari componenti dell'OE tramite tecniche analitiche di tipo cromatografico e spettroscopico. La dimostrazione dell'efficacia dipenderà dai risultati di studi rigorosi che dovranno definire, se possibile, gli eventuali componenti biologicamente attivi (Bicchi, 2015).

La conoscenza approfondita delle caratteristiche chimiche degli OE è quindi necessaria per effettuare uno studio rigoroso scientifico, se si vuole ottenere da essi il massimo rendimento terapeutico ed evitare spiacevoli reazioni collaterali. La ditta produttrice deve sempre fornire le caratteristiche chimiche di un OE tramite: scheda tecnica e certificato di analisi (numero di lotto).

Tali riferimenti fondamentali permetteranno di rapportarsi alle caratteristiche previste dalla Farmacopea Europea, documento imprescindibile da un punto di vista legale, per consentire la prescrizione medica, l'utilizzo clinico degli OE e la formulazione di presidi terapeutici per scopi medici. Gli OE da usare a scopo terapeutico non potranno quindi che essere quelli contemplati nella Farmacopea Europea (Camporese, 2013).

Gli attuali studi scientifici sugli OE nell'ambito delle infezioni microbiche riguardano soprattutto l'attività antimicrobica *in vitro*, il meccanismo di azione, l'attività antimicrobica *in vivo* e in minor misura la sicurezza e la tossicologia (D'Agostino, 2019; Lang, 2012).

Attività antifungina degli OE *in vitro*

Un grande numero di OE e loro costituenti sono stati ben caratterizzati *in vitro* sia in forma liquida che gassosa, per la loro attività nei confronti di lieviti, dermatofiti e altri funghi filamentosi.

In generale l'attività antimicrobica *in vitro* varia da un microrganismo all'altro e da un OE all'altro, ma è sempre dose-dipendente e inoltre è strettamente connessa alla composizione chimica e alla concentrazione dei loro costituenti, che non dipendono solo dalla specie e dall'organo produttore della pianta, ma anche da vari altri fattori quali: tempo balsamico, impiego di fertilizzanti e/o erbicidi, tecnica estrattiva, eventuale rettificazione o deterpenazione, modalità di conservazione, ecc.

Sono presenti in letteratura anche numerosi studi sull'uso degli OE e dei loro componenti, in combinazione con farmaci convenzionali, che risultano promettenti per poter contrastare, con dosi meno tossiche, la farmacoresistenza microbica (Ayaz, 2019).

Vi sono però delle limitazioni nella valutazione in generale dell'attività antimicrobica *in vitro* in quanto la comparazione dei dati scientifici rimane spesso problematica a causa del vasto numero di metodologie usate e l'assenza di una loro standardizzazione insieme ai valori soglia (*breakpoint*) secondo le direttive internazionali – *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) e *The Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI). Spesso gli OE non rispondono ai requisiti di buona qualità, in quanto si tratta di miscele poco definite di vari composti.

Inoltre, gli OE presentano caratteristiche fisico-chimiche peculiari quali volatilità, bassa solubilità in acqua, e bassa stabilità chimica, ma tali problematiche sembra si possano superare con le nanotecnologie. Le nano-particelle funzionalizzate con OE hanno infatti un potenziale antimicrobico significativo *in vitro*, sia a causa di un aumento della stabilità chimica e della solubilità, ma anche a causa della diminuzione della rapida evaporazione e della degradazione dei componenti volatili attivi dell'OE. Il loro rilascio controllato e prolungato inoltre ne aumenterebbe la biodisponibilità e l'efficacia contro i microrganismi (Rai, 2017).

Molti autori (Lang, 2012; D'Agostino, 2019; Karpinsky, 2020) mettono in evidenza l'attività antifungina *in vitro* di molti OE. Nel 2019 D'Agostino, in un suo articolo, ha selezionato in letteratura alcuni OE e loro componenti per il loro comprovato effetto antifungino e per il loro uso frequente (Tabella 1), mettendo a paragone le loro Minime Concentrazioni Inibenti (MIC) con quelle di antimicotici convenzionali di riferimento, quando quest'ultime sono rilevate.

Inoltre, cosa degna di nota, lo stesso autore ha riportato i variegati valori di misura dell'attività antifungina degli OE riscontrati in letteratura a un'unica unità, consentendo quindi una maggiore e rapida confrontabilità dei dati ottenuti.

Tabella 1. Esempi selezionati di oli essenziali ad attività antifungina (rielaborata e modificata da D'Agostino et al. 2019)

Olio essenziale (OE)	Famiglia botanica	Principali componenti	Parti della pianta da cui si trae OE	Alcune specie fungine patogene testate	MIC con valori convertiti a un'unica unità di misura	Rif.
Cannella <i>Cinnanomum verum</i>	Lauraceae	cinnamaldeide	foglie scorza semi	<i>Candida</i> spp.	250-1000 µg/mL	Essid et al. 2017
				<i>Fusarium</i> spp.	31,25-500 µg/mL	Homa et al. 2015
Chiodi di garofano <i>Syzygium aromaticum</i>	Myrtaceae	1,8- cineolo, eugenolo	boccioli dei fiori essiccati	<i>Candida</i> spp.	125-250 µg/mL	Essid et al. 2017
Cumino <i>Cuminum cyminum</i>	Apiaceae	cuminaldeide, cimene, gamma- terpinene, 1,8- cineolo	parte aerea	<i>C. albicans</i>	3,90-11,71 µg/mL	Minoeianh aghghi et al. 2017
Eucalipto <i>Eucaliptus camaldulensis</i>	Myrtaceae	p-cimene, 1,8- cineolo	foglie	<i>P. funiculosum</i> <i>A. niger</i> <i>A. flavus</i>	0,15 mg/mL 0,47 mg/mL 0,43 mg/mL	Elansary et al. 2017
Eucalipto <i>Eucaliptus citriodora</i>	Myrtaceae	citronello, citronellale	foglie	<i>C. albicans</i>	318 µg/mL	Dutta et al. 2007
Geranio <i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	geraniolo, citronello	parte aerea	<i>Candida</i> spp.	250-1000 µg/mL	Essid et al. 2017
Lavanda <i>Lavandula angustifolia</i>	Lamiaceae	linalolo, linalil acetato	parte aerea	<i>C. albicans</i>	445 µg /mL	D'Auria et al. 2005
Menta <i>Mentha piperita</i>	Lamiaceae	linalolo, mentolo, piperitone	infiorescenze	<i>C. albicans</i> <i>A. niger</i>	800 µg/mL 222 µg/mL	Stringaro et al. 2018
Menta <i>Mentha pulegium</i>	Lamiaceae	pulegone, piperitone	infiorescenze	<i>C. albicans</i> <i>A. niger</i>	1 mg/mL 250 mg/mL	Mahboubi et al. 2008
Origano <i>Origanum vulgare</i>	Lamiaceae	timolo, carvacrolo, sabinene, linalolo	foglie	<i>C. albicans</i> <i>A. niger</i>	1,48-1,75 mg/mL 2,75-2,85 mg/mL	Santoyo et al. 2006
Rosmarino <i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	1,8 cineolo, canfora, alfa pinene	parte aerea foglie	<i>C. albicans</i>	24-31 mg/mL	Ksouri et al. 2017
					0,78 mg/mL	de Oliveira et al. 2017a
Tea Tree- <i>Melaleuca alternifolia</i>	Myrtaceae	terpinen-4-olo	foglie	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Candida</i> spp.	1,60-200 µg/mL 3-800 µg/mL	Carson et al. 2006
Timo <i>Thymus pulegioides</i>	Lamiaceae	timolo, carvacrolo	foglie, parte aerea	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Dermatofiti</i> <i>Candida</i> spp.	160-640 µg/mL	Pinto et al. 2006
Timo <i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	timolo, carvacrolo, p-cymene	foglie, parte aerea	<i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i>	62 µg/mL	Ahmad et al. 2014

Nel 2020 Karpinsky ha riportato che più della metà degli OE delle piante (72) della famiglia delle Lamiaceae ha una buona attività antifungina (MIC <1000 µg/mL). La migliore attività (MIC <100 µg/mL) si ha in OE di alcune specie dei generi *Clinopodium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Thymbra* e *Thymus*. In alcuni casi sono state osservate discrepanze significative tra diversi studi. I componenti chimici che si trovano più comunemente includono β-cariofillene (41 piante), linalolo (27), limonene (26), β-pinene (25), 1,8-cineolo (22), carvacolo (21), α-pinene (21), p-cimene (20), γ-terpinene (20) e timolo (20).

Molta letteratura mostra che una vasta gamma di lieviti, dermatofiti e altri funghi filamentosi sono sensibili soprattutto all'OE di *Melaleuca alternifolia* (*Tea Tree Oil*, TTO). In Tabella 2 vengono riportati intervalli dei valori dell'attività del TTO nei confronti delle varie specie fungine ottenuti tramite varie referenze reperibili nel lavoro di Carson CF *et al.* del 2006. Sebbene le metodologie differiscano, le MIC generalmente sono tra 0,03 e 0,5% v/v e le Minime Concentrazioni Fungicide (MFC) generalmente variano da 0,12 a 2% v/v. L'eccezione è costituita dalla muffa *Aspergillus niger* con MFC 8% v/v. Tuttavia, questi saggi sono stati effettuati con i conidi fungini di cui è nota la relativa impervietà agli agenti chimici; i conidi germinati risultano più sensibili al TTO (Carson, 2006).

Tabella 2. Attività *in vitro* dell'olio essenziale di *Melaleuca alternifolia* (TTO) nei confronti di varie specie fungine. Rielaborata da Carson CF *et al.*, 2006*

Specie fungina	Minima Concentrazione Inibente MIC% (v/v) **	Minima Concentrazione Fungicida MFC% (v/v) **
<i>Alternaria</i> spp.	0,016-0,12	0,06-2
<i>Aspergillus flavus</i>	0,31-0,7	2-4
<i>A. fumigatus</i>	0,06->2	1-2
<i>A. niger</i>	0,016-0,4	2-8
<i>Blastoschizomyces capitatus</i>	0,25	
<i>Candida albicans</i>	0,06-8	0,12-1
<i>C. glabrata</i>	0,03-8	0,12-0,5
<i>C. parapsilosis</i>	0,03-0,5	0,12-0,5
<i>C. tropicalis</i>	0,12-2	0,25-0,5
<i>Cladosporium</i> spp.	0,008-0,12	0,12-4
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0,015-0,06	
<i>Epidermophyton floccosum</i>	0,008-0,7	0,12-0,25
<i>Fusarium</i> spp.	0,008-0,25	0,25-2
<i>Malassezia furfur</i>	0,03-0,12	0,5-1,0
<i>M. sympodialis</i>	0,016-0,12	0,06-0,12
<i>Microsporum canis</i>	0,03-0,5	0,25-0,5
<i>M. gypseum</i>	0,016-0,25	0,25-0,5
<i>Penicillium</i> spp.	0,03-0,06	0,5-2
<i>Rhodotorula rubra</i>	0,06	0,5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,25	0,5
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	0,11-0,44	0,25-0,5
<i>T. rubrum</i>	0,03-0,6	0,25-1
<i>T. tonsurans</i>	0,004-0,016	0,12-0,5
<i>Trichosporon</i> spp.	0,12-0,22	0,12

* Gli intervalli dei valori dell'attività antifungina *in vitro* sono tratti da varie referenze reperibili in Carson CF *et al.*, 2006

Meccanismo d'azione antifungina degli OE

Il preciso meccanismo d'azione degli OE non è stato ancora delucidato. In generale, sembrerebbe che gli OE agiscano a più livelli, a seconda della concentrazione dell'OE. Nella

letteratura viene riscontrato che sembrano essere particolarmente colpite la membrana plasmatica e la parete cellulare e infatti il primo effetto durante il contatto con un OE viene riscontrato sulla morfologia dei funghi (de Oliveira *et al.*, 2017b). Vari studi mostrano anche una perdita dell'integrità della membrana e una diminuzione della quantità di ergosterolo (componente principale della membrana fungina), nonché un'inibizione nella formazione della parete. Gli OE hanno anche un'azione inibente sulle ATPasi di membrana e sulle interazioni tra le varie citochine (Shreaz *et al.*, 2016a), i mitocondri e il reticolo endoplasmatico sembrano essere siti importanti nei loro meccanismi di azione (Figura 1). Infine, sembra essere influenzata l'espressione di un certo numero di geni, in particolare, i geni coinvolti nell'adesione, nella crescita, nel dimorfismo, nella sporulazione, ecc. Attualmente per spiegare i meccanismi d'azione si hanno solo dati preliminari.

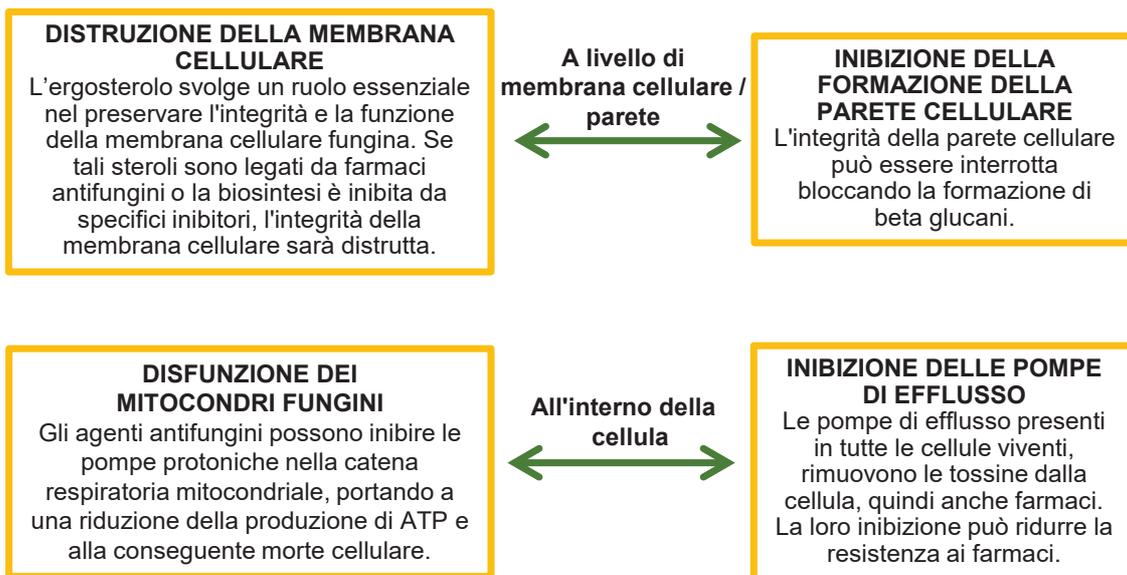


Figura 1. Meccanismo di azione antifungina degli oli essenziali (rielaborata e tradotta da Nazzaro *et al.*, 2017)

Effetti sinergici antifungini degli OE

La combinazione di molecole antifungine convenzionali con alcuni componenti dell'OE potrebbe essere utile per realizzare un sinergismo, cioè avere un effetto comune superiore a quello delle singole molecole. Inoltre, un effetto sinergico tra due composti potrebbe ridurre la dose da utilizzare e quindi ridurre la tossicità per l'uomo e i potenziali effetti collaterali di entrambi i composti, oltre a contrastare la farmaco-resistenza. I risultati variano in base al microrganismo, al farmaco convenzionale e all'OE. L'indice di concentrazione inibitoria frazionaria (FICI) stima l'interazione tra due o più composti al fine di determinare il risultato combinato di diverse molecole. Un valore inferiore a 0,5 denota sinergismo, un valore maggiore di 4 mostra antagonismo e tra questi due valori (0,5-4) la combinazione è considerata indifferente. Questo valore FICI è quindi variabile a seconda delle molecole testate, ma anche delle specie bersaglio. Diversi meccanismi sembrano essere coinvolti nell'effetto sinergico degli antimicotici, tra i quali l'inibizione simultanea di diversi bersagli cellulari (Johnson, 2004) e di diversi stadi nelle vie intracellulari fungine che sono essenziali per la sopravvivenza cellulare. Sebbene gli studi si concentrino spesso sui componenti principali degli OE, i componenti minoritari della miscelac

svolgono comunque vari ruoli, in particolare determinano la natura lipofila o idrofila, e quindi la capacità dell'OE di penetrazione cellulare o la sua distribuzione all'interno della cellula. Ciò implica che lo studio dell'intero OE sarebbe più informativo sull'effetto antimicrobico rispetto allo studio di un singolo componente (Bakkali, 2008). Diversi studi mostrano una maggiore efficacia antimicrobica dell'intero OE rispetto al singolo componente principale. La combinazione del composto principale e degli altri componenti rimanenti dell'OE potrebbe avere un effetto sinergico o un'influenza potenziante. D'altra parte, alcuni composti minoritari possono avere l'effetto di diminuire la capacità sinergica del composto principale, come fanno l'alfacimene e il delta-terpinene con il timolo (Khan, 2011).

Attività antifungina *in vivo* degli OE: studi preclinici e clinici

Gli studi preclinici, effettuati sugli animali, costituiscono un valido supporto sperimentale per studi di sicurezza d'uso e di efficacia degli OE nelle infezioni microbiche umane. La maggior parte di queste indagini sono focalizzate sull'efficacia dell'olio essenziale di *Melaleuca alternifolia* (TTO, *International Standard*) e pochi studi sono stati pubblicati per altri OE e componenti. Per quanto riguarda le micosi, vengono prese in considerazione soprattutto infezioni mucosali o sistemiche da *Candida* spp. (Manohar, 2001; Mondello, 2003; Mondello, 2006; Chami, 2004; Chami, 2005; Pietrella, 2011; Wang, 2020) infezioni cutanee da dermatofiti (Tiwari, 2003; Sokovic, 2008; Pisseri, 2009; Nardoni *et al.*, 2017) e da *Malassezia* spp. (Nardoni, 2014; Nardoni, 2017). Nella maggior parte degli studi, gli OE sono stati applicati localmente in soluzione o crema. Tuttavia, in uno studio (aspergillosi nel topo) viene usata come via di somministrazione dell'OE l'inalazione (Hood, 2010) e in un altro (*tinea pedis* nella cavia) il vapore (Inouye, 2001).

È da sottolineare che gli studi presi in considerazione dalla letteratura coprono una vasta gamma di infezioni fungine che si verificano in una varietà di animali domestici e di laboratorio e che, nonostante l'eterogeneità presente negli studi, la maggior parte ha mostrato un esito clinico positivo. Questo indica che gli OE potrebbero essere degli agenti terapeutici potenziali negli animali, con eventuale potenzialità di uso anche nell'uomo, ovviamente dopo conferme di ulteriori studi di efficacia e sicurezza di uso.

Gli studi clinici riguardanti infezioni fungine nell'uomo trattate con OE, riscontrati in letteratura, sono riportati nelle Tabelle 3, 4 e 5 con relativa bibliografia. La maggior parte degli studi clinici pregressi non sono stati condotti secondo gli standard oggi in uso (per progettazione e per metodologia), di conseguenza non sono confrontabili con gli studi clinici sui trattamenti convenzionali e non sono stati presi in considerazione.

Gli attuali studi clinici in ambito umano, con OE, sono promettenti, in quanto hanno mostrato che questi prodotti di origine vegetale presentano: un'efficacia uguale o di poco inferiore al trattamento convenzionale standard; una migliore efficacia rispetto al placebo e in generale un miglioramento dei sintomi clinici, comportando anche guarigione micologica.

Rispetto ai trattamenti convenzionali antifungini gli OE presenterebbero il vantaggio di essere meno costosi, in particolare se gli OE in formulazione vengono classificati come farmaci da banco, e di avere bassi livelli di reazioni avverse (principalmente irritazione della pelle o dolore lieve negli studi sull'uomo).

Inoltre, a causa della natura complessa e della composizione dei costituenti bioattivi presenti negli OE, le modalità di trattamento con OE possono poi comportare un rischio inferiore per lo sviluppo di resistenza ai funghi. Sono comunque senz'altro necessari ulteriori studi randomizzati e controllati ben progettati per determinare l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti con OE, in particolare studi di conferma su una popolazione più ampia in cui si valuti: la concentrazione finale ottimale dell'OE, la formulazione del prodotto; la durata e la frequenza del trattamento; eventuali effetti avversi; il costo-efficacia del potenziale trattamento terapeutico con gli OE.

Tabella 3. Studi clinici con oli essenziali nei confronti di infezioni mucosali e cutanee da *Candida* spp.

Tipo di studio	Popolazione valutata / reclutata	Gruppi di trattamento (n. pz valutati)	Trattamento e durata	Risultati	Eventi avversi	Rif.
Studio clinico singolo cieco controllato randomizzato	18/25 pz anziani per valutare la riduzione dei livelli di accumulo di placca e di microbi patogeni (tra cui specie di <i>Candida</i>) a livello orale	Gruppo test collutorio commerciale senza alcol a base di componenti di OE* (n.9) Gruppo controllo acqua di rubinetto (n.9)	Sciacqui 2 v/die dopo i pasti con 15 mL per 30 s per 45 gg	Gruppo con collutorio non superiore al gruppo controllo nel prevenire l'accumulo di placca e diminuire i livelli di patogeni orali. Non significativo ($P > 0,05$)	no	Chalhoub <i>et al.</i> 2016
Studio pilota	9/13 pz con candidosi vaginale e positivi per la presenza di <i>Candida</i>	Gruppo trattamento 1 probiotici <i>per os</i> <i>L. acidophilus</i> e <i>S. boulardii</i> rispettivamente a $2,5^6$ e 4^6 CFU/cps (n.9) Gruppo trattamento 2 probiotici <i>per os</i> + supposte vaginali a base di TTO (n.4)	2 cps/die probiotici <i>per os</i> per 15 gg. Dopo 1° trattamento se pz positivi per <i>Candida</i> : 2 cps/die probiotici <i>per os</i> + supposte vaginali TTO 1 v/die prima di coricarsi per altri 15 gg per 3 mesi	Dopo 1° trattamento 55,5% pz (5/9) è negativo per coltura fungina. Dopo 2° trattamento aggiuntivo 50% pz (2/4) è negativo. % totale pz negativi 77,7% (7/9). Tutti i pz al termine dei trattamenti hanno riportato la scomparsa dei sintomi e un generale miglioramento	no	Di Vito <i>et al.</i> 2016
Studio pilota	18/40 pz con diagnosi clinica di onicomicosi dell'alluce (da dermatofiti, muffe e lieviti)	Pomata commerciale a base di timolo, mentolo, canfora e OE di eucalipto (n.18)	1 v/die per 48 sett. pz seguiti a intervalli di 4, 8, 12, 24, 36 e 48 sett.	Cura micologica e clinica parziale o completa a 48 sett. in 15/18 pz (83%). Solo il 27,8% è stato curato. Tutti i partecipanti erano "soddisfatti" (n.9) o "molto soddisfatti" (n.9).	no	Derby <i>et al.</i> 2011
Studio clinico doppio cieco controllato randomizzato	80 pz con diagnosi clinica di candidosi orale (stomatite da protesi) e positivi per la presenza di <i>C. albicans</i>	Gruppo trattamento con OE <i>Pelargonium graveolens</i> in gel (n.40) Gruppo controllo con placebo con solo gel (n.40)	2 v/die (mattina e sera) per 14 gg	Gruppo trattamento 34% miglior. totale, 56% miglior. parziale, 10% nessun miglior. Gruppo di controllo 5% miglior. totale, 25% miglior. parziale, 70% nessun miglior. Riduzione statisticamente significativa di n. CFU e segni e sintomi della candidosi orale in relazione al placebo ($P < 0,0001$)	no	Sabzghabae <i>et al.</i> 2011

Tipo di studio	Popolazione valutata / reclutata	Gruppi di trattamento (n. pz valutati)	Trattamento e durata	Risultati	Eventi avversi	Rif.
Studio clinico controllato randomizzato	27/118 pz con diagnosi clinica di candidosi orale (stomatite da protesi) e positivi per la presenza di <i>C. albicans</i>	Gruppo 1 TTO ≤ 20% + CT (n.9) Gruppo 2 Nistatina + CT (n.9) Gruppo Placebo CT puro (n.9)	Per 12 gg i pz dormono con la protesi condizionata e sciacquano la protesi solo con acqua fredda per pulirla.	Sia TTO che nistatina miscelati con CT sono stati efficaci nel produrre una remissione clinica e micologica della stomatite ($P \leq 0,001$). I dati statistici suggeriscono che l'eliminazione di <i>C. albicans</i> è più rapida con <i>M. alternifolia</i> rispetto alla nistatina	no	Catalán <i>et al.</i> 2008
Studio clinico controllato aperto randomizzato	24 pz con diagnosi clinica di candidosi orale (stomatite da protesi) e positivi per la presenza di <i>C. albicans</i>	Gruppo 1 <i>Zataria multiflora</i> Boiss gel 0,1% (n.12) Gruppo 2 Miconazolo gel 2% (n.12)	Il gel è stato applicato alla base della protesi 4 v/die per 4 sett.	Il gel <i>Z. multiflora</i> ha ridotto l'eritema superficiale del palato in modo più efficiente rispetto al gel di miconazolo, ma non ha ridotto il numero di colonie sulla superficie della protesi con la stessa efficacia del miconazolo. Riduzione statisticamente significativa del numero di CFU e dei segni e sintomi della candidosi orale nei due gruppi. Nessuna differenza significativa tra i due gruppi	no	Amanlou 2006
Studio clinico aperto singolo randomizzato	27 pz sieropositivi AIDS con candidosi orale refrattaria al fluconazolo	Gruppo 1 15 mL soluz. alcolica orale a base di TTO** (n.13) Gruppo 2 5 mL soluz. non alcolica orale a base di TTO** (n.14)	4 v/die 30-60 s per 2-4 sett.	Risposta micologica e clinica in: 58% (soluz. alcolica) 54% (soluz. non alcolica)	66,7% (soluz. alcolica) 15,4% (soluz. non alcolica)	Vasquez <i>et al.</i> 2002
Studio clinico aperto	12/13 pz sieropositivi AIDS con candidosi orale refrattaria al fluconazolo	Gruppo 1 15 mL soluz. orale a base di TTO** (n.12)	Sciacqui 4 v/die 30-60 s per 2-4 sett.	Dopo quattro sett.: 67% risposta clinica 58% risposta globale (risposta micologica + risposta clinica)	no	Jandourek <i>et al.</i> 1998

* mentolo; timolo; eucaliptolo; metilsalicilato; fluoruro di sodio

**Preparazioni commerciali a base di TTO con concentrazione sconosciuta. Le formulazioni sembrano essere terapie alternative efficaci in caso di candidosi resistente

CT: Condizionatori tissutali: materiali acrilici morbidi per impronte, usati anche per facilitare la guarigione di tessuti molli edentuli danneggiati (stomatite da protesi); **UFC** Unità Formanti Colonia; **pz:** pazienti; **v/die:** volte al giorno

Tabella 4. Studi clinici con oli essenziali nei confronti di infezioni da *Malassezia* spp.

Tipo di studio	Popolazione valutata/arruolata	Gruppi di trattamento (n. pz valutati)	Trattamento e durata	Risultati	Eventi avversi	Rif.
Studio clinico	120 pz con <i>Pitiriasi versicolor</i> con lesioni ipo- e iperpigmentate da <i>Malassezia</i> spp.	TTO 1 -veicolato in membrana amniotica umana (HAM)* (n.48 con lesioni ipo-pigmentate) Tioconazole 2 1% in crema (n.48 con lesioni ipo-pigmentate) TTO 3 (HAM) (n.12 con lesioni iper-pigmentate) Tioconazole 4 1% in crema (n.12 con lesioni iper-pigmentate)	TTO 1 -veicolato in HAM Una volta/sett per 8 sett. Tioconazole 2 2 v/die per 8 sett.	Il trattamento con TTO-veicolato in HAM per curare le lesioni ipo-pigmentate risulta superiore in confronto al trattamento con tioconazole, in concordanza con i dati microbiologici, quindi altamente significativo ($P<0,001$). Per le lesioni iper-pigmentate si ha efficacia per entrambi i trattamenti senza differenza significativa tra i gruppi trattati	no	Nashwa 2020
Studio clinico randomizzato in doppio cieco	74/90 pz con forfora da <i>Malassezia</i> spp.	Soluzione 1 con <i>Myrtus communis</i> L. al 2% (n.37)** Placebo 2 Shampoo 3 al ketoconazole 2% (n.37) Placebo 4	8 volte in un mese	Entrambi i gruppi hanno mostrato un miglioramento altamente significativo ($P<0,001$). Non c'erano differenze significative tra i gruppi in termini di efficacia, tasso di soddisfazione ed effetti collaterali. ($P> 0,05$ per ciascun risultato)	In 8 pz (11%), ma nessuna differenza significativa tra i gruppi ($P> 0,05$)	Chaijan <i>et al.</i> 2018
Studio clinico randomizzato in doppio cieco	30 pz con forfora da <i>Malassezia</i> spp.	Formulazione 1 15% OE di citronella (<i>Cymbopogon flexuosus</i>) in tonico per capelli (n.10) Formulazione 2 10% OE (n.10) Formulazione 3 5% OE (n.10) Placebo 4 solo tonico base	5 gocce di OE 2 v/die (mattina e sera) per 2 sett. in metà della testa e placebo (solo tonico base) nell'altra metà testa per 14 gg	OE di citronella al 10% ha ridotto la forfora del 75% a 7 gg ($P<0,005$) e dell'81% a 14 gg ($P<0,005$) Significativo	no	Chaisripipat <i>et al.</i> 2015
Studio clinico randomizzato in doppio cieco	42/54 pz con dermatite seborroica	Gel 5% TTO 2 (n.21) Placebo 2 (veicolo hydroxypropyl cellulose) (n.21)	3 v/die per 4 sett.	Miglioramento di eritema, desquamazione, prurito, croste Significativo ($P<0,05$)	no	Beheshti <i>et al.</i> 2014

Tipo di studio	Popolazione valutata/arruolata	Gruppi di trattamento (n. pz valutati)	Trattamento e durata	Risultati	Eventi avversi	Rif.
Studio clinico randomizzato	20 pz (fase I) + 76 pz (fase II) con <i>Pitiriasi versicolor</i> da <i>Malassezia</i> spp.	Cymbopogon citratus 1 OE 1,25 µl/mL Shampoo e crema (n.47) 2% Ketoconazolo 2 Shampoo e crema (n.29) Nessun placebo 3	Crema 2 v/die Shampoo 3 volte a sett. per 40 gg	Tasso di guarigione micologica: Gruppo 1 OE <i>C. citratus</i> 60% ($P < 0,05$) Gruppo 2 ketoconazolo > 80% ($P < 0,05$) Entrambi i gruppi hanno mostrato un miglioramento significativo	no	Carmo <i>et al.</i> 2013
Studio clinico randomizzato in singolo cieco	126 pz con forfora da lieve a moderata da <i>Malassezia furfur</i>	5% TTO 1 Shampoo (n.63) Placebo 2 Shampoo (n.63)	1 v/die per 4 sett.	Gruppo 1 TTO 41,2%, Gruppo 2 Placebo 11,2% Significativo $P < 0,001$	no	Satchell <i>et al.</i> 2002

* HAM: Human Amniotic Membrane, tessuto placentare, con attività antimicrobiche e antinfiammatorie, utile come medicazione per la guarigione delle lesioni cutanee.

**Non è un vero e proprio OE, ma un herbal product preparato secondo la medicina tradizionale iraniana

Tossicità ed effetti collaterali degli OE

Sebbene gli OE presentino comprovate attività biologiche, non sono però privi di effetti collaterali, anche se molti componenti di questi prodotti sono generalmente riconosciuti come sicuri (*Generally Recognized as Safe*, GRAS) dalla *Food and Drug Administration* (FDA).

Infatti, 80 diversi OE possono essere responsabili di allergie o dermatiti (De Groot, 2016) e causare anche stomatite o ototossicità. La somministrazione sistemica dell'OE può causare neuro- o epato-tossicità, irritazione renale e alterazioni della mucosa intestinale. Alcuni di essi, come gli OE di agrumi, possono anche essere fototossici. Questi effetti sono chiaramente correlati al dosaggio, alla composizione dell'OE (variabile a seconda della stagione o della pianta utilizzata), al modo di somministrazione, allo stato di salute della persona che lo utilizza o agli additivi presenti negli oli. Anche l'ossidazione dovuta alla conservazione dell'OE può svolgere un ruolo nella tossicità. Ad esempio, l'OE di *Melaleuca alternifolia*, come ogni OE, può causare irritazioni e allergie, ma quest'ultime sembrano verificarsi soprattutto nel caso di un OE mal conservato o vecchio (Carson, 2006). Un altro esempio è l'OE di *Cinnamomum zeylanicum* (cannella), che può causare lieve dolore, prurito o sensazione di bruciore e allergie da contatto (Shreaz *et al.*, 2016b). Diversi effetti collaterali sono già stati evidenziati dopo l'uso dell'OE di *Mentha piperita* L. Ad esempio, può causare nausea e vampate oltre a reazioni allergiche già attribuite ad altri OE. Questi effetti potrebbero essere dovuti alle interazioni farmacologiche causate dall'OE. Infatti, è noto che l'OE di *Mentha piperita* L. interferisce con il citocromo P450, che svolge un ruolo importante nel metabolismo dei farmaci (McKay, 2006). Uno studio *in vitro* sui fibroblasti ha permesso di dimostrare un effetto tossico dell'OE di *Syzygium aromaticum* (chiodi di garofano) a una concentrazione dello 0,03% (1,8 µM). Questa tossicità era principalmente dovuta all'eugenolo, un importante componente dell'OE di chiodi di garofano, che portava a danni alla membrana plasmatica o a un effetto apoptotico (Prashar, 2006). Altri danni sono stati rilevati quando gli OE sono somministrati a un'elevata concentrazione in studi *in vitro*. Ad esempio, sono stati rilevati

cambiamenti ultrastrutturali (segregazione nucleolare, degenerazione lipidica, mitocondri danneggiati) (D'Agostino, 2019).

Resistenza indotta dagli OE

Esistono pochi dati sulla resistenza indotta dagli OE, e in particolare sui funghi responsabili delle infezioni. La maggior parte degli studi riguardano batteri patogeni. Alcuni batteri hanno mostrato resistenza agli OE, ad esempio uno studio su *Pseudomonas aeruginosa* ha mostrato un aumento della tolleranza contro i componenti del TTO durante il contatto con una concentrazione sub-inibitoria (Papadopoulos, 2008). È stato anche dimostrato che la presenza di una concentrazione sub-inibitoria di un OE può influenzare la sensibilità dei batteri agli antibiotici (Langeveld, 2014). Ad esempio, la coltivazione di *Proteus mirabilis* nell'OE di *Origanum vulgare* ha aumentato la sensibilità all'ampicillina di 8 volte. Questo fenomeno dipende dalla specie e dall'olio studiati. Infatti, l'esposizione di *P. aeruginosa* all'OE di *Origanum vulgare* o all'OE di *Cinnamomum zeylanicum* non modifica la MIC per tutti gli antibiotici testati (Becerril, 2012). La resistenza indotta dagli OE è ancora poco conosciuta e richiede ulteriori studi. Attualmente è considerata generalmente debole, reversibile e dipendente dalle specie studiate e dall'olio studiato. Va inoltre presa in considerazione la possibilità di una resistenza innata di alcune specie (Piątkowska, 2016).

Conclusioni

Gli OE sono già ampiamente utilizzati in vari campi come la cosmetologia o l'industria alimentare e numerosi sono gli studi scientifici che ne hanno evidenziato e confermato anche i loro molteplici effetti biologici, soprattutto antimicrobici.

Per quanto riguarda le infezioni fungine, in letteratura gli studi preclinici dimostrano l'elevata attività antifungina degli OE verso *C. albicans* in modelli di infezione mucosale nella ratte, anche con l'uso di ceppi fungini resistenti ai comuni antimicotici, ma anche verso infezioni da funghi dermatofiti e da *Malassezia* spp. Gli studi clinici, con trattamenti antifungini a base di OE sull'uomo, sono promettenti, ma ancora non esaustivi. Infatti, sono necessarie ulteriori conferme, attraverso le quali si conosceranno meglio gli eventuali effetti collaterali di questi prodotti naturali o dei suoi singoli componenti, in particolare contro una data specie patogena.

Gli effetti antifungini di questi OE, da soli o in combinazione con antimicotici convenzionali, rappresenterebbero una soluzione molto interessante per superare i fallimenti terapeutici legati alla comparsa di ceppi fungini resistenti e all'aumento dei trattamenti immunosoppressivi in medicina. C'è ancora molto lavoro da fare prima di poter effettivamente includere gli OE negli attuali trattamenti medici, ma questi prodotti naturali rimangono buoni candidati per una possibile integrazione e/o un'alternativa, in alcuni casi estremi di farmaco-resistenza, alla terapia antifungina, soprattutto nel campo delle infezioni fungine cutanee e mucosali.

Bibliografia

- Ahmad A, van Vuuren S, Viljoen A. Unravelling the complex antimicrobial interactions of essential oils-- the case of *Thymus vulgaris* (thyme). *Molecules* 2014;6;19(3):2896-910.
- Amanlou M, Beitollahi JM, Abdollahzadeh S, Tohidast-Ekrad Z. Miconazole gel compared with *Zataria multiflora* Boiss. gel in the treatment of denture stomatitis. *Phytother Res* 2006;20(11):966-9.

- Ayaz M, Ullah F, Sadiq A, Ullah F, Ovais M, Ahmed J, Devkota HP. Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. *Chem Biol Interact* 2019;308:294-303.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—A review. *Food Chem Toxicol* 2008;46(2):446-475.
- Becerril R, Nerin C, Gómez-Lus R. Evaluation of bacterial resistance to essential oils and antibiotics after exposure to oregano and cinnamon essential oils. *Foodborne Pathog Dis* 2012;9(8):699-705.
- Beheshti Roy A, Tavakoli-far B, Fallah Huseini H, Tousi P, Shafiqh N, Rahimzadeh M. Efficacy of *Melaleuca alternifolia* Essential Oil in the Treatment of Facial Seborrheic Dermatitis: A Double-blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Med Plants* 2014;13(51):26-32.
- Bicchi C, Rubiolo P. Oli Essenziali: Controllo di qualità. In: Mondello F, Marella AM, Bellardi MG, Di Vito M. (Ed.). *Oli essenziali per la salute dell'uomo e la salvaguardia dell'ambiente*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2015. (Rapporti ISTISAN 15/6).
- Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. *J Fungi* (Basel) 2017;3(4):57.
- Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Sci Transl Med* 2012;4(165):165rv13.
- Camporese A. Gli oli essenziali nelle patologie infettive. *Natural 1* 2013;34-37. Disponibile all'indirizzo: https://www.natural1.it/media/k2/attachments/oe_patologie_infettive.pdf; ultima consultazione 03/06/2021.
- Carmo ES, Pereira Fde O, Cavalcante NM, Gayoso CW, Lima Ede O. Treatment of *Pityriasis versicolor* with topical application of essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf - therapeutic pilot study. *An Bras Dermatol* 2013;88(3):381-5.
- Carson CF, Hammer K, Riley T. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: A Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clin Microbiol Rev* 2006;19(1):50-62.
- Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA. In vitro and in vivo activity of *Melaleuca alternifolia* mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105(3):327-32.
- CDC. *Fungal Diseases*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2019. Disponibile all'indirizzo: <https://www.cdc.gov/fungal/about-fungal-diseases.html>; ultima consultazione 13/05/2019.
- CDC. *Fungal Diseases and Covid 19*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2021a. Disponibile all'indirizzo: <https://www.cdc.gov/fungal/covid-fungal.html>; ultima consultazione 03/06/2021.
- CDC. *Fungal Diseases, Mucormycosis*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2021b. Disponibile all'indirizzo: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/mucormycosis/index.html>; ultima consultazione 25/02/2021.
- CDC. *Fungal Diseases, Candida auris*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2021c. Disponibile all'indirizzo: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/index.html>; ultima consultazione 11/05/2021.
- Chaijan MR, Handjani F, Zarshenas M, Rahimabadi MS, Tavakkoli A. The *Myrtus communis* L. solution versus ketoconazole shampoo in treatment of dandruff: A double blinded randomized clinical trial. *J Pak Med Assoc* 2018;68(5):715-20.
- Chaisripipat W, Lourith N, Kanlayavattanukul M. Anti-dandruff Hair Tonic Containing Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) Oil. *Forsch Komplementmed* 2015;22(4):226-9.

- Chalhoub E, Emami E, Freijé M, Kandelman D, Campese M, St-Georges A, Voyer R, Rompré P, Barbeau J, Leduc A, Durand R. Effectiveness of an alcohol-free essential oil-containing mouthwash in institutionalised elders receiving long-term care: a feasibility study. *Gerodontology* 2016;33(1):69-78.
- Chami F, Chami N, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *J Antimicrob Chemother* 2004;54(5):909-14.
- Chami N, Bennis S, Chami F, Aboussekhra A, Remmal A. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol *in vitro* and *in vivo*. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20(2):106-11.
- D'Agostino M, Tesse N, Frippiat JP, Machouart M, Debourgogne A. Essential oils and their natural active compounds presenting antifungal properties. *Molecules* 2019;24(20):3713.
- D'Auria FD, Tecca M, Strippoli V, Salvatore G, Battinelli L, Mazzanti G. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Med Mycol* 2005;43(5):391-6.
- De Groot AC, Schmidt E. Essential Oils, Part I: Introduction. *Dermatitis* 2016;27(2):39-42.
- de Oliveira JR, de Jesus D, Figueira LW, de Oliveira FE, Pacheco Soares C, Camargo SE, Jorge AO, de Oliveira LD. Biological activities of *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) extract as analyzed in microorganisms and cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2017a;242(6):625-34.
- de Oliveira Lima MI, Araújo de Medeiros AC, Souza Silva KV, Cardoso GN, de Oliveira Lima E, de Oliveira Pereira F. Investigation of the antifungal potential of linalool against clinical isolates of fluconazole resistant *Trichophyton rubrum*. *J Mycol Med* 2017b;27(2):195-202.
- Derby R, Rohal P, Jackson C, Beutler A, Olsen C. Novel treatment of onychomycosis using over-the-counter mentholated ointment: a clinical case series. *J Am Board Fam Med* 2011;24(1):69-74.
- Di Vito M, Fracchiolla G, Mattarelli P, Modesto M, Tamburro A, Padula F, Agatensi L, Giorlandino FR, Girolamo A, Carbonara GG, Carrieri A, Corbo F, Mondello F. Probiotic and Tea Tree Oil Treatments Improve Therapy of Vaginal Candidiasis: A Preliminary Clinical Study. *Med J Obstet Gynecol* 2016;4(4):1090.
- Dutta BK, Karmakar S, Naglot A, Aich JC, Begam M. Anticandidal activity of some essential oils of a mega biodiversity hotspot in India. *Mycoses* 2007;50(2):121-4.
- Elansary HO, Salem MZM, Ashmawy NA, Yessoufou K, El-Settawy AAA. In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of *Eucalyptus* spp. leaf extracts related to phenolic composition. *Nat Prod Res* 2017;31(24):2927-930.
- Essid R, Hammami M, Gharbi D, Karkouch I, Hamouda TB, Elkahoui S, Limam F, Tabbene O. Antifungal mechanism of the combination of *Cinnamomum verum* and *Pelargonium graveolens* essential oils with fluconazole against pathogenic *Candida* strains. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017;101(18):6993-7006.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). *Rapid risk assessment: Candida auris in healthcare settings – Europe, 2018*. Solna: ECDC; 2018. Disponibile all'indirizzo: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-candida-auris-healthcare-settings-europe>; ultima consultazione 23/04/2018.
- European Pharmacopoeia Commission. *The European Pharmacopoeia* (10th edn.). Strasbourg: Council of Europe 2021; p. 864.
- Homa M, Fekete IP, Böszörményi A, Singh YR, Selvam KP, Shobana CS, Manikandan P, Kredics L, Vágvölgyi C, Galgóczy L. Antifungal effect of essential oils against *Fusarium Keratitis* isolates. *Planta Med* 2015;81(14):1277-84.
- Hood JR, Burton DM, Wilkinson JM, Cavanagh HM. The effect of *Leptospermum petersonii* essential oil on *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *Med Mycol* 2010;48(7):922-31.
- Horn F, Heinekamp T, Kniemeyer O, Pollmächer J, Valiante V, Brakhage AA. Systems biology of fungal infection. *Front Microbiol* 2012;3:108.

- Inouye S, Uchida K, Yamaguchi H. *In-vitro* and *in-vivo* anti-*Trichophyton* activity of essential oils by vapour contact. *Mycoses* 2001;44(3-4):99-107.
- Jandourek A, Vaishampayan JK, Vazquez JA. Efficacy of melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole refractory oral candidiasis in AIDS patients. *AIDS* 1998;12(9):1033-7.
- Johnson MD, MacDougall C, Ostrosky-Zeichner L, Perfect JR, Rex JH. Combination antifungal therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:693-715.
- Karpinsky TM. Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. *Biomolecules* 2020;10(1):103.
- Khan MSA, Ahmad I. Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011;90(3):1083-94.
- Ksouri S, Djebir S, Bentorki AA, Gouri A, Hadeif Y, Benakhla A. Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. *J Mycol Med* 2017;27(2):245-49.
- Lahmer T, Kriescher S, Herner A, Rothe K, Spinner CD, Schneider J, Mayer U, Neuenhahn M, Hoffmann D, Geisler F, Heim M, Schneider G, Schmid RM, Huber W, Rasch S. Invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia: Results from the prospective AspCOVID-19 study. *PLoS One*. 2021;16(3):e0238825.
- Lang G, Buchbauer G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. *Flavour Fragr J* 2012;27(1):13-39.
- Langeveld WT, Veldhuizen EJA, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: A review. *Crit Rev Microbiol* 2014 40(1):76-94.
- Mahboubi M, Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J Ethnopharmacol* 2008;119(2):325-7.
- Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur NA, Echard BW, Bagchi D, Preuss HG. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Mol Cell Biochem* 2001;228(1-2):111-7.
- McKay DL, Blumberg JB. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.) *Phytother Res* 2006;20(8):619-633.
- Minoocianhaghighi MH, Sepehrian L, Shokri H. Antifungal effects of *Lavandula binaludensis* and *Cuminum cyminum* essential oils against *Candida albicans* strains isolated from patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *J Mycol Med* 2017;27(1):65-71.
- Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic *Candida* species. *BMC Infect Dis* 2006;6:158.
- Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Salvatore G, Cassone A. *In vitro* and *in vivo* activity of tea tree oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic yeasts. *J Antimicrob Chemother* 2003;51(5):1223-9.
- Mondello F, Girolamo A, Di Vito M. Potenzialità degli oli essenziali nelle malattie infettive. In: Mondello F, Marella AM, Bellardi MG, Di Vito M. (Ed.). *Oli essenziali per la salute dell'uomo e la salvaguardia dell'ambiente*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2015. (Rapporti ISTISAN 15/6).
- Mondello F. *Funghi patogeni per l'uomo: generalità e prospettive*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2008. (Rapporti ISTISAN 08/10).
- Nardoni S, Costanzo AG, Mugnaini L, Pisseri F, Rocchigiani G, Papini R, Mancianti F. Study comparing an essential oil-based shampoo with miconazole/chlorhexidine for haircoat disinfection in cats with spontaneous microsporidiosis. *J Feline Med Surg* 2017;19:697-701.

- Nardoni S, Mugnaini L, Pistelli L, Leonardi M, Sanna V, Perrucci S, Pisseri F, Mancianti F. Clinical and mycological evaluation of an herbal antifungal formulation in canine *Malassezia dermatitis*. *J Mycol Med* 2014;24:234-40.
- Nardoni S, Pistelli L, Baronti I, Najar B, Pisseri F, Bandeira Reidel RV, Papini R, Perrucci S, Mancianti F. Traditional mediterranean plants: Characterization and use of an essential oils mixture to treat *Malassezia otitis* externa in atopic dogs. *Nat Prod Res* 2017;31:1891-1894.
- Nashwa RK, Ahmed EB, Nemr WA. Comparative study between topically applied irradiated human amniotic membrane in combination with tea tree oil versus topical tioconazole in pityriasis versicolor treatment. *Cell Tissue Bank* 2020;21(2):313-20.
- Nazzaro F, Fratianni F, Coppola R, De Feo V. Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals* (Basel) 2017;10(4):86.
- Papadopoulos CJ, Carson CF, Chang BJ, Riley TV. Role of the MexAB-OprM efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* in tolerance to tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its monoterpene components terpinen-4-ol, 1,8-cineole, and alpha-terpineol. *Appl Environ Microbiol* 2008;74(6):1932-5.
- Piątkowska E, Rusiecka-Ziółkowska J. Influence of essential oils on infectious agents. *Adv Clin Exp Med* 2016;25(5):989-95.
- Pietrella D, Angiolella L, Vavala E, Rachini A, Mondello F, Ragno R, Bistoni F, Vecchiarelli A. Beneficial effect of *Mentha suaveolens* essential oil in the treatment of vaginal candidiasis assessed by real-time monitoring of infection. *BMC Complement Altern Med* 2011;11:18.
- Pinto E, Pina-Vaz C, Salgueiro L, Gonçalves MJ, Costa-de-Oliveira S, Cavaleiro C, Palmeira A, Rodrigues A, Martinez-de-Oliveira J. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J Med Microbiol* 2006;55(Pt 10):1367-373.
- Pisseri F, Bertoli A, Nardoni S, Pinto L, Pistelli L, Guidi G, Mancianti F. Antifungal activity of tea tree oil from *Melaleuca alternifolia* against *Trichophyton equinum*: an in vivo assay. *Phytomedicine* 2009;16(11):1056-8.
- Prashar A, Locke IC, Evans CS. Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Prolif* 2006;39(4):241-8.
- Rai M, Paralikar P, Jogee P, Agarkar G, Ingle AP, Derita M, Zacchino S. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. *Int J Pharm* 2017;519(1-2):67-78.
- Sabzghabae AM, Shirdare Z, Ebadian B, Aslani A, Ghannadi A. Clinical evaluation of the essential oil of *Pelargonium graveolens* for the treatment of denture stomatitis. *Dent Res J (Isfahan)* 2011;8(Suppl 1):S105-8.
- Salam AM, Quave C.L. Opportunities for plant natural products in infection control. *Curr Opin Microbiol* 2018;45:189-94.
- Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibañez E, Señoráns FJ, Reglero G. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: determination of optimal extraction parameters. *J Food Prot* 2006;69(2):369-75.
- Satchell AC, Saurajen A, Bell C, Barnetson RS. Treatment of dandruff with 5% tea tree oil shampoo. *J Am Acad Dermatol* 2002;47(6):852-5.
- Shreaz S, Shiekh RA, Raja V, Wani WA, Behbehani JM. Impaired ergosterol biosynthesis mediated fungicidal activity of Co(II) complex with ligand derived from cinnamaldehyde. *Chem Biol Interact* 2016a;247:64-74.
- Shreaz S, Wani WA, Behbehani JM, Raja V, Irshad M, Karched M, Ali I, Siddiqi WA, Hun LT. Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents. *Fitoterapia* 2016b;112:11-131.

- Soković M, Glamoclija J, Cirić A, Kataranovski D, Marin PD, Vukojević J, Brkić D. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* L. and thymol on experimentally induced dermatomycoses. *Drug Dev Ind Pharm* 2008;34(12):1388-93.
- Stringaro A, Colone M, Angiolella L. Antioxidant, Antifungal, Antibiofilm, and Cytotoxic Activities of *Mentha* spp. Essential Oils. *Medicines* (Basel) 2018;5(4):112.
- Tiwari TN, Chansouria JPN, Dubey NK. Antimycotic potency of some essential oils in the treatment of induced dermatomycosis of an experimental animal. *Pharm Biol* 2003; 41(5):351-6.
- Vazquez JA, Zawawi AA. Efficacy of alcohol-based and alcohol-free melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole-refractory oropharyngeal candidiasis in patients with AIDS. *HIV Clin Trials* 2002;3(5):379-85.
- Wang Z, Yang K, Chen L, Yan R, Qu S, Li YX, Liu M, Zeng H, Tian J. Activities of Nerol, a natural plant active ingredient, against *Candida albicans* *in vitro* and *in vivo*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2020;104:5039-52.