

OLI ESSENZIALI: RUOLO E PROSPETTIVE D'USO NELLE INFEZIONI FUNGINE

Francesca Mondello, Antonietta Girolamo, Antonio Cassone
Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

A causa della scarsità di nuovi antibiotici e vaccini, nonché per la resistenza di molti batteri ai comuni antibiotici, le malattie infettive costituiscono ancora un grosso problema in medicina e una continua sfida terapeutica. Per queste ragioni, nell'ultimo ventennio si è verificato un notevole interesse per l'uso terapeutico di sostanze naturali in alcune patologie infettive, incluse quelle fungine di particolare rilievo nell'ospite immunocompromesso.

Recentemente la letteratura scientifica ha evidenziato, tra le sostanze naturali, gli oli essenziali (OE; complesse misture di sostanze vegetali volatili) sia per l'ampio spettro di attività biologiche presentato, sia per la loro biodisponibilità e la loro esigua tossicità. Attualmente un grande numero di OE e i loro costituenti sono stati ben caratterizzati *in vitro* per la loro attività nei confronti di lieviti, di dermatofiti e di altri funghi filamentosi. Tuttavia i dati microbiologico-clinici promettenti sono spesso insufficienti, aneddotici e non basati sull'uso di metodologie validate e di modelli sperimentali con buona predittività per l'uso clinico. Inoltre spesso gli OE utilizzati nella ricerca non rispondono ai requisiti di buona qualità, in quanto si tratta di miscele poco definite di vari composti. In questa breve rassegna verranno prevalentemente analizzati e discussi:

- 1) i differenti aspetti e le recenti ricerche sui criteri di qualità degli OE e sull'attività antifungina di quest'ultimi, e dei principali componenti, nei riguardi di funghi patogeni umani;
- 2) i principali meccanismi di azione antifungina;
- 3) gli studi preclinici ;
- 4) l'eventuale efficacia clinica;
- 5) le future prospettive di tali sostanze come possibile alternativa e/o integrazione per la prevenzione e risoluzione delle micosi.

Composizione chimica e attività antimicrobica degli OE

Gli OE sono complesse miscele di sostanze organiche, costituite prevalentemente da terpeni (idrocarburi aromatici polimeri di isoprene) estratte da piante aromatiche mediante distillazione in corrente di vapore o spremitura, oleose, infiammabili, volatili a temperatura ambiente.

La qualità degli OE è garantita da alcuni criteri fondamentali, quali la conoscenza della specie botanica esatta, del chemiotipo (indicante i componenti che conferiscono un'azione terapeutica), della parte della pianta usata e del gascromatogramma. Quest'ultimo rappresenta "l'impronta digitale" dell'OE ed è fondamentale per valutare le caratteristiche chimiche di un OE in riferimento al lotto che si intende utilizzare, sia per i test microbiologici che per la terapia dei pazienti. Si evince che esiste un'enorme variabilità da lotto a lotto e purtroppo solo alcuni fitocomplessi sono regolati da norme internazionali o farmacopee, come ad esempio il *tea tree*

oil, olio essenziale di *Melaleuca alternifolia*, (TTO) con l'International Standard for "Oil of *Melaleuca-terpinen-4-ol type*," che stabilisce le quantità minime e/o massime per 14 componenti dell'olio (Tabella 1) (1, 2).

Tabella 1. Composizione dell'olio essenziale di *Melaleuca alternifolia* (tea tree-TTO), chemiotipo terpinen-4-olo

Componenti	Composizione (%)	
	EU.PH.4°Ed. ISO 4730 * Range	Composizione tipica**
1,8-cineolo	≤15,0	5,1
alfa-terpinene	5,0-13,0	10,4
gamma-terpinene	10,0-28,0	23,0
p-cimene	0,5-12,0	2,9
terpinen-4-olo	≥ 30,0	40,1
alfa-terpineolo	1,5-8,0	2,4
alfa-pinene	1,0-6,0	2,6
terpinolene	1,5-5,0	3,1
aromadendrene	tracce-7,0	1,5
delta-cadinene	tracce-8,0	1,3
limonene	0,5-4,0	1,0
sabinene	tracce-3,5	0,2
globulolo	tracce-3,0	0,2
viridoflorolo	tracce-1,5	0,1

(*) EU.PH.4°Ed, *European Pharmacopoeia, Fourth edition* (2002); ISO 4730, International Organization for Standardization standard no. 4730. (**) da Brophy, J. J., N. W. Davies, I. A. Southwell, I. A. Stiff, and L. R. Williams. 1989. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol type* (Australian tea tree). *J. Agric. Food Chem.* 37:1330–1335. Tradotto e adattato da Carson C F, Hammer K A, Riley T V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin. Microbiol. Rev.* 19: 50-62, 2006.

La letteratura chiaramente evidenzia l'ampio spettro di attività antifungine e antinfiammatorie degli OE. Tuttavia solo recentemente un grande numero di OE e loro costituenti sono stati ben caratterizzati *in vitro* per le loro proprietà antifungine, anche se ancora la comparazione dei dati rimane spesso problematica a causa delle varie tipologie di metodologie usate. I dati disponibili mostrano che una vasta gamma di lieviti, dermatofiti e altri funghi filamentosi sono sensibili agli OE e ai loro costituenti principali, sotto forma sia liquida che gassosa. L'attività antimicrobica varia da un microrganismo all'altro e da un OE all'altro, ma è sempre dose dipendente. Inoltre è strettamente connessa alla composizione chimica e alla concentrazione dei loro costituenti, che non dipendono solo dalla specie, ma anche da altri fattori come la provenienza della pianta, la parte della pianta usata, lo stadio di sviluppo della pianta, le condizioni di crescita (temperatura, terreno, fertilizzanti), la distillazione e le condizioni di conservazione.

Bisogna anche considerare nel valutare l'attività antimicrobica che gli OE hanno un basso indice terapeutico (potenza microbica direttamente proporzionale alla tossicità, ovvero il rapporto tra la dose terapeutica e quella tossica) e ciò significa che è necessario avere un'olio con una minima concentrazione inibente (MIC) ottimale più bassa possibile per evitare effetti collaterali (3, 4). Per valutare l'attività antimicrobica degli OE *in vitro* in genere vengono utilizzati i metodi convenzionali utilizzati per testare gli antibiotici che dovrebbero avere tutte le caratteristiche di standardizzazione, ripetibilità e qualità del risultato richieste dagli organismi internazionali di controllo, quali l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e il *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (Tabelle 2 e 3).

Tabella 2. Esempi selezionati di oli essenziali con attività antifungina

Oli essenziali	Componenti e/o derivati	Funghi	Metodo	Range di MIC <i>in vitro</i>	Referenze
<i>Lavandula angustifolia</i>	Linalolo Linalyl acetate	<i>Candida albicans</i>	microdiluzione CLSI M27-A2	0,09-1,04%	D'Auria FD <i>Med Mycol</i> 2005
<i>Citrus bergamia</i> (bergamotto)	Furocumarina e estratti distillati	<i>Trichophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Epidermophyton</i>	microdiluzione CLSI M38-A	0,156-2,5%	Sanguinetti M <i>JAC</i> 2007 Sanguinetti M <i>JAC</i> 2005
		<i>Candida</i>	microdiluzione CLSI M27-A2	1,25-10%	
<i>Melaleuca alternifolia</i> (tea tree)	Terpinen-4-olo	<i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i>	microdiluzione CLSI M27-A2	0,03-0,5%	Mondello F <i>JAC</i> 2003 Mondello F <i>BMC Infec Dis</i> 2006
Timo rosso, finocchio, chiodi di garofano, pino, melissa, lavanda		<i>Dermatophytes</i> <i>Dematiaceous</i>	microdiluzione CLSI M38-A	0,0078->1%	Tullio V <i>J Appl Microb</i> 2006
			contatto con vapore (microatmosfera)		
<i>Salvia officinalis</i>		<i>Dermatophytes</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> <i>Cladosporium</i> , <i>Fusarium</i> <i>Candida</i>	microdiluzione CLSI M38-A	0,63->10 µL/mL	Pinto E <i>Industrial Crops and Products Intern J</i> 2007
			microdiluzione CLSI M27-A2	1,25-10 µL/mL	
<i>Thymus pulegioides</i>	Timolo, Carvacrolo, P-cymene, Gamma-terpinene	<i>Dermatophytes</i> <i>Aspergillus</i> <i>Candida</i>	microdiluzione CLSI M38-A	0,08->20 µL/mL	Pinto E <i>J Med Microbiol</i> 2006
			microdiluzione CLSI M27-A2	0,08->20 µL/mL	
<i>Mentha suaveolens</i>	Piperitenone oxide Piperitone oxide	<i>Dermatophytes</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Candida</i>	microdiluzione CLSI M27-A3	0,39 mg/mL	Pietrella D <i>et al.</i> <i>BMC Complem Altern Med</i> 2011

Le specifiche proprietà degli OE (volatilità, insolubilità, viscosità) richiedono però delle modificazioni dei suddetti metodi, perché si potrebbe avere una distribuzione non omogenea dell'olio anche utilizzando un appropriato solubilizzante che deve essere inerte nei confronti del microrganismo testato. Inoltre bisogna considerare che tali complesse miscele di sostanze volatili potrebbero evaporare o decomporsi durante una lunga incubazione, che dovrebbe quindi essere monitorata in tal senso. Altri fattori importanti che possono influenzare la valutazione dell'attività antimicrobica degli OE sono anche: l'inoculo, il terreno di coltura, la temperatura, le condizioni di crescita in aerobiosi o anaerobiosi, il tipo di solubilizzante (tween, DMSO, etanolo, agar), l'uso di sigillanti.

Sono stati utilizzati anche metodi non convenzionali per la valutazione *in vitro* dell'attività antimicrobica degli OE quali il metodo della microatmosfera (test per valutare l'attività di OE in fase di vapore), la turbidimetria (test per misurare i cambiamenti della densità ottica della coltura durante la curva di crescita con *multiscan photometer*, anche se la torbidità dell'emulsione olio-acqua può interferire con la lettura dell'*end point*), la bioimpedenza (test veloce, ripetibile, effettuabile per molti campioni, che si basa sulla

correlazione fra i parametri elettrici alterati dalla coltura in crescita, strettamente collegati all'attività metabolica del microrganismo testato, e il numero di cellule, espresso come CFU/mL).

Molta letteratura mostra che una vasta gamma di lieviti, dermatofiti e altri funghi filamentosi sono sensibili al TTO, sebbene i test differiscano, le minime concentrazioni inibenti (MIC) generalmente sono tra 0,03 e 0,5% e le minime concentrazioni fungicide (MFC) generalmente da 0,12 a 2% (5). L'eccezione è costituita da *Aspergillus niger* con MFC 8%. Tuttavia questi saggi sono effettuati con i conidi fungini di cui è nota la relativa impervietà agli agenti chimici; i conidi germinati sono più sensibili al TTO (Tabella 4).

Tabella 3. Suscettibilità *in vitro* per varie specie fungine testate con diversi oli essenziali (OE) e con i loro componenti principali

Funghi	OE e/o componenti testati con metodo di diluizione (MIC <i>in vitro</i>)	OE e/o componenti testati con metodo di diffusione
<i>Aspergillus flavus</i>	Carota 2000, timolo 250, cinnamaldeide 200, geraniolo, nerolo, citronellolo 500 ppm, tea tree 0,5%, <i>Artemisia nilagirica</i> 500 ppm	Alloro, cannella, chiodi di garofano eucalipto
<i>A. fumigatus</i>	Carota 2000 ppm, timolo 125 (µg/mL) <i>Artemisia nilagirica</i> 250 ppm	<i>Piper betle</i> , palmarosa, citronella, menta piperita
<i>A. niger</i>	Eucalipto 0,4%, tanacetolo, elecampane 4000 ppm, tea tree 0,4%, <i>Origanum syriacum</i> 0,1%	Alloro, geranio, origano, timo
<i>A. parasiticus</i>	Timo 0,4, cumino 0,6, chiodi di garofano 0,6, rosmarino 2,0 mg/mL	Tea tree
<i>Candida albicans</i>	Achillea 2500 µg/mL, elecampane 2000 ppm, chiodi di garofano 3,4-9 mg/mL, 0,4% eucalipto, pino 2,5-29 mg/mL, linalolo, terpineolo 0,25%, camazulene 500 µg/mL, polyacetylenes 0,5 mg/mL, <i>Artemisia asiatica</i> 2 µL/mL, <i>Ocimum gratissimum</i> 350 µg/g, timolo 50 µg/g, tea tree 0,2%, timo 5 mg/mL, cannella, cinnamaldeide, carvacrolo 1 mg/mL, <i>Zieria</i> sp. 0,2%, Manuka 0,31%, issopo 0,3%, Aniba canelilla 170 µg/mL, 0,5 mg/mL	<i>Artemisia</i> , rosmarino, chiodi di garofano, coriandolo, cannella, maggiorana, salvia, achillea, pino
<i>Candida spp.</i>	<i>Aniba canelilla</i> 360 µg/mL, cumino nero 2,5, prezzemolo 12,5 mg/mL, cardamomo 1.600 µg/mL, origano, maggiorana 5 ppm	<i>Vicia indica</i> , <i>Murraya exotica</i> , alloro, <i>Myrtus communis</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Cannella, palmarosa, chiodi di garofano, origano, timo 200, timolo, carvacrolo 50 µL/L, <i>Ocimum gratissimum</i> 300 µg/mL, timolo 50 µg/g	<i>Artemisia</i> , citronella, menta piperita, <i>Piper angustifolium</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Eucalipto 0,4%, polyacetylenes 0,125 mg/mL, cannella 200, chiodi di garofano 400, geranio, cipresso 600 ppm, anetolo 200 µg/mL	Rosmarino, chiodi di garofano, coriandolo, cannella, maggiorana, salvia, pino

Tradotto e adattato da Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem.* 10(10):813-29, 2003.

Tabella 4. Suscettibilità *in vitro* per varie specie fungine testate con olio essenziale di *Melaleuca alternifolia*

Specie fungine	% (vol/vol)	
	MIC(*)	MFC(*)
<i>Alternaria spp.</i>	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	0,25-0,5
<i>Cladosporium spp.</i>	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 spp.</i>	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 spp.</i>	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 spp.</i>	0,12-0,22	0,12

(*) range ottenuti da varie referenze

Tradotto e adattato da Carson C F, Hammer K A, Riley T V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin. Microbiol. Rev.* 19: 50-62, 2006.

Meccanismo di azione antifungina degli OE

Il meccanismo di azione degli OE nei riguardi dei microrganismi è complesso e ancora non è stato ben chiarito perché dipende da vari fattori: dal tipo di potenza antimicrobica dei vari OE, che dipende dalla loro composizione chimica e quindi dalle loro caratteristiche prevalentemente idrofile o lipofile; dal tipo di microrganismi ed è principalmente collegato alla struttura della loro parete cellulare.

L'azione degli OE verso i batteri Gram-positivi e funghi sembra essere simile. Segni visibili della loro azione contro i lieviti, i dermatofiti e altri funghi filamentosi possono essere osservati con cambiamenti morfologici e funzionali micro e macroscopici.

La maggior parte degli studi sul meccanismo di azione antifungina degli OE sono stati condotti su *Candida albicans*, il maggiore patogeno fungino umano. Gli OE sembrano agire prevalentemente con cambiamenti strutturali e funzionali delle membrane fungine, portando alla dispersione del citoplasma e alla morte cellulare. Si assiste quindi ad un blocco della sintesi delle membrane, inibizione della germinazione, riproduzione e respirazione cellulare. Gli studi principali si sono focalizzati molto sul meccanismo di azione del TTO, dimostrando l'alterazione della permeabilità delle cellule dei lieviti (Tabella 5).

Tabella 5. Meccanismo di azione antifungina di alcuni oli essenziali

Oli essenziali e componenti	Concentrazione	Microrganismi target	Meccanismo d'azione	Referenze
<i>Tea tree</i>	0,25%	<i>Candida albicans</i> <i>C. glabrata</i>	Permeabilizzazione e lisi?	Cox <i>et al. Molecules</i> 2001;6:87-91 Hammer KA <i>et al. JAC</i> 2004;53:1081-5
<i>Tea tree</i>	1,0%	<i>C. albicans</i>	Inibisce la respirazione in modo dose dipendente	Cox <i>et al. J Appl Microbiol</i> 88;170-5:2001
<i>Tea tree</i>	0,25%	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Inibisce l'acidificazione del terreno ATPasi dipendente Altera mitocondri e membrana plasmatica	Hammer KA <i>et al. JAC</i> 2004;53:1081-5
<i>Tea tree</i>	0,25% 0,125%	<i>C. albicans</i>	Morfogenesi inibita Gemazione multipla	Hammer KA <i>et al. Med Mycol</i> 2000;38:355-62
<i>Tea tree</i>	1,0%	<i>C. albicans</i>	Modificazioni della membrana plasmatica e nucleare	Stringaro A <i>et al.</i> (dati non pubblicati)
Origanum Chiodi di garofano carvacrolo eugenolo		<i>C. albicans</i>	Danni alla parete	Chami N. <i>et al. Oral Microbiol Immunol</i> 2005;20:106-11
<i>Thymus pulegioides</i>	0,64µL/mL	<i>Candida</i> , <i>Aspergillus dermatofite</i> sp	Distrugge la struttura della membrana cellulare Riduzione del contenuto in ergosterolo	Pinto <i>et al. J Med Microbiol.</i> 2006;55:1367-73
<i>Origanum compactum</i> <i>Eugenia caryofillata</i>	0,2%	<i>S. cerevisiae</i>	Alterazione della forma cellulare e fratture superficiali	Chami F. <i>et al. Phytoter Res</i> 2005;19:405-08

Studi preclinici con gli OE

Gli studi preclinici costituiscono un valido supporto sperimentale per studi di sicurezza d'uso e di efficacia degli OE nelle micosi umane e rappresentano un contributo preliminare per lo sviluppo di una nuova generazione di agenti antifungini naturali a scopo terapeutico e preventivo. Nella Tabella 6 si mette in evidenza che il carvacrolo, il maggiore componente fenolico dell'OE di timo e di origano e l'eugenolo, il maggiore componente fenolico dell'OE di garofano sono stati usati in un modello sperimentale di vaginite e di candidosi orale nella ratta, confermandone l'efficacia (6-8). L'applicazione vaginale di olio di geranio e il suo componente principale geraniolo sopprime la crescita di *C.albicans* e l'infiammazione locale nella candidosi sperimentale murina (9).

L'efficacia *in vivo* dell'OE di timo e di perilla tramite contatto con vapore degli OE è stato dimostrato in *tinea pedis* sperimentale in cavie infettate con *Trichophyton mentagrophytes*, dimostrando una potente azione anti-*Trichophyton* tramite contatto con solo vapore (10).

L'elevata attività antifungina di TTO e di terpinen-4-olo viene dimostrata per la prima volta, in un modello di infezione sperimentale di *C. albicans* nella ratte, modello molto predittivo della terapia della vaginite da *Candida* nelle donne, anche con l'uso di un ceppo fluconazolo (FCZ) e itraconazolo (ITR) resistente. Tre dosi *post-challenge* di TTO al 5% v/v e di terpinene-4-olo all'1% v/v sono risultate altamente significative nel risolvere efficacemente l'infezione vaginale con *C. albicans* resistente a FCZ, nelle ratte infettate sperimentalmente. Tuttavia TTO 5% v/v risulta più attivo del terpinene-4-olo 1% v/v nel risolvere l'infezione causata da *C. albicans* farmaco-resistenti (11-13).

Tabella 6. Studi preclinici con esempi selezionati di oli essenziali antifungini

Oli essenziali (componenti)	Microrganismi target	Modello animale	Comparatore	Referenze
Timo Perilla	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>Tinea pedis</i> in cavie		Inouye S. <i>et al.</i> <i>Mycoses</i> 2001;44:99-107
Tea tree Terpinen-4-olo	<i>C. albicans</i>	Vaginite nelle ratte	fluconazolo	Mondello F. <i>et al.</i> <i>J Antimicrob Chemoter</i> 51(5):1223-9,2003 Mondello F. <i>et al.</i> <i>BMC Infect Dis</i> 2006;6:158
<i>Origanum</i> Chiodi di garofano carvacrolo eugenolo	<i>C. albicans</i>	Candidosi orale nelle ratte immuno-depresse	nistatina	Chami F. <i>et al.</i> <i>Braz J Infec Dis</i> 2004;8:217-26 Chami F. <i>et al.</i> <i>Oral Microbiol Immunol</i> 2005;20:106-11
<i>Origanum</i> Chiodi di garofano carvacrolo eugenolo	<i>C. albicans</i>	Vaginite nelle ratte immuno-depresse	nistatina	Chami F. <i>et al.</i> <i>J Antimicrob Chemoter</i> 2004;54(5):909-14
<i>Pelargonium</i> geraniolo	<i>C. albicans</i>	Vaginite nei topi immuno-depressi	clotrimazolo	Mayurama N. <i>et al.</i> <i>Biol Pharm Bull</i> 2008;31(8):1501-6
<i>Mentha suaveolens</i>	<i>C. albicans</i>	Vaginite nei topi	tea tree oil	Pietrella D. <i>et al.</i> <i>BMC Complement Altern Med</i> 2011;11(1):18

Studi clinici

Nei pochi casi in cui sono stati effettuati studi clinici i dati sono promettenti, ma non ancora esaustivi (Tabella 7). Molti studi clinici effettuati per convalidare l'efficacia clinica degli OE non sono stati considerati scientificamente validi dagli standard oggi in uso, perché in molti casi non sono stati condotti in condizioni controllate (14). Sebbene alcuni di questi dati clinici

indichino che molti OE possano essere efficaci come agenti terapeutici sono necessari rigorosi studi di conferma. Fattori come la concentrazione finale ottimale dell'olio, la formulazione del prodotto, la durata e la frequenza del trattamento, eventuali effetti avversi possono influenzare l'efficacia farmacologica e devono essere considerati in futuri studi clinici. Quest'ultimi dovranno considerare e studiare anche in modo molto stringente gli eventuali effetti tossici. Il costo-efficacia del potenziale trattamento terapeutico con gli OE dovrà essere considerato.

Tabella 7. Alcuni esempi selezionati di studi clinici con tea tree oil (TTO)

Studio popolazione	Tipo di studio	Terapia gruppo pazienti	Trattamento somministrato	Risultati	Effetti avversi
117 pazienti con coltura positiva per onicomicosi	RCT*, Doppio cieco	TTO 100%, 1% clotrimazolo	2 volte al di per 6 mesi	Completa o parziale risoluzione per il 60% per il gruppo TTO e 61% per il gruppo clotrimazolo non significativo	7,8% TTO, 5,7% clotrimazolo
60 pazienti con diagnosi clinica per onicomicosi	RCT doppio cieco	TTO 5% crema, butenafine 2%+ TTO 5% crema	3 volte al di per 8 settimane	Guarigione in 80% del gruppo butenafine/TTO and 0% nel gruppo TTO P<0,0001	10% butenafine/ gruppo TTO
13 pazienti con AIDS+candidosi orale resistente al fluconazolo	Serie di casi	soluzione orale TTO	4 volte al di per 2-4 settimane	Risposta clinica 67% dopo 4 settimane	nessuno
27 pazienti con AIDS+candidosi orale resistente al fluconazolo	Studio aperto	soluzione orale TTO + soluzione orale TTO priva di alcool	4 volte al di per 2-4 settimane	Risposta clinica e micologica in 58% (soluzione con alcool) e 54% (soluzione priva di alcool)	66,7% (sol con alcool) 15,4% (sol priva di alcool)
121 pazienti con diagnosi clinica per <i>tinea pedis</i>	RCT, doppio cieco	TTO 10% in sorbolene, tolnaftato 1%, placebo (sorbolene)	2 volte al di per 4 settimane	Miglioramento micologico e clinico in 46% gruppo tolinaftato, 22% gruppo TTO, 9% gruppo placebo non significativo	nessuno
137 pazienti con coltura positiva per <i>tinea pedis</i>	RCT doppio cieco	TTO 25%, TTO 50%, placebo	2 volte al di per 4 settimane	Cura efficace in 48% gruppo (TTO 25%), 50% gruppo (TTO 50%), 13% gruppo placebo. P<0,0005	2,8% in gruppo TTO 25%, 7,9% in gruppo TTO 50%
126 pazienti con forfora da blanda a moderata	RCT	TTO 5% shampoo, placebo shampoo	1 volta al di per 4 settimane	41,2% in gruppo TTO 5%, 11,2% in gruppo placebo. P<0,001	5% in gruppo TTO 13% in gruppo placebo

* RCT= studio controllato randomizzato

Conclusioni e future prospettive

Gli oli essenziali potrebbero costituire una possibile integrazione e, in alcuni casi estremi, un'alternativa all'antibiotico-terapia, in particolare nei casi refrattari alla terapia convenzionale (es. vaginite ricorrente). Infatti tali misture, oltre a dimostrare una notevole attività antimicrobica, possiedono proprietà biologiche e terapeutiche multifunzionali (antinfiammatorie, immunomodulanti, ecc.). I dati sperimentali in letteratura danno un sostanziale supporto a precedenti evidenze empiriche sull'efficacia antifungina *in vitro* degli oli essenziali, anche nei confronti di specie fungine farmaco-resistenti e confermano anche che i principali componenti degli OE generalmente rappresentano il prodotto attivo della mistura. Gli studi preclinici dimostrano l'elevata attività antifungina degli OE verso *C. albicans* in modelli di infezione orale e vaginale sperimentale nella ratta e di infezione sistemica murina, anche con l'uso di ceppi fungini resistenti. Tali indagini costituiscono un valido supporto sperimentale preclinico per studi di sicurezza d'uso e di efficacia. Manca tuttavia una serie di studi clinici controllati, in particolare in doppio cieco e randomizzati, che possano fornire una base di certezza dell'efficacia clinica.

Problemi ulteriori da affrontare per l'uso clinico sono senz'altro la necessità di standardizzazione dei metodi di estrazione, dei criteri di qualità dell'OE testato e delle metodiche *in vitro*, in modo che la ricerca possa essere più sistematica e l'interpretazione dei risultati più facilitata. Si richiedono inoltre ulteriori conferme scientifiche (studi pre-clinici, clinici e farmacocinetici) delle evidenze empiriche terapeutiche provenienti dalla tradizione clinica. Inoltre studi sul sinergismo con farmaci come amfotericina B, fluconazolo e altri antimicotici potrebbero essere utili per migliorare l'indice terapeutico dei farmaci antifungini, attualmente abbastanza tossici per l'ospite alle dosi impiegate e per trattamenti ripetuti.

Bibliografia

1. ISO 4730. *Oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (tea tree oil)*. Geneva International Organization for Standardization; 2004.
2. Strasbourg: Council of Europe. *European Pharmacopoeia*, 4th edn, 2002.
3. Camporese A, Oli essenziali e malattie infettive. Terapia antimicrobica ragionata con gli oli essenziali, *Tecniche Nuove*, 1998.
4. Centro Clinico di Medicina Naturale. Disponibile all'indirizzo: www.usl11.toscana.it/fito_idx_it.php ; ultima consultazione 06/10/2011.
5. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev* 2006;19: 50-62.
6. 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 Nov;54(5):909-14.
7. Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Braz J Infect Dis*. 2004; 8(3):217-26.
8. 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.
9. Maruyama N, Takizawa T, Ishibashi H, Hisajima T, Inouye S, Yamaguchi H, Abe S. Protective activity of geranium oil and its component, geraniol, in combination with vaginal washing against vaginal candidiasis in mice. *Biol Pharm Bull*. 2008; 31(8):1501-6.

10. 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.
11. 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 *Antimicrob Chemother* 2003;51(5):1223-9.
12. 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.
13. De Bernardis F, Lorenzini R, Cassone A. Rat model of *Candida* vaginal infection. In: . O Zak Merle, A.Sande (Ed) *Handbook of Animal Model of Infection*. Academic press; 1999.
14. Martin KW, Ernst E. Herbal medicines for treatment of fungal infections: a systematic review of controlled clinical trials. *Mycoses* 2004;47(3-4):87-92.