Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Estudio *in vitro* del aromatograma de 85 aceites esenciales

Carlos Sebastiá Pitarch.
Laboratorio de Análisis clínico. Valencia

ANTIMICROBIAL EVALUATION OF ESSENTIAL OILS. SEBASTIA, CARLOS.

Keywords: Plant products, essential oils, antimicrobial agents.

English abstract: The anti-bacterial and anti-fungal activity of 85 different essential oils has been tested against microbial strains obtained from type culture collections. The microorganisms used were Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans, these species being chosen because of their frequent involvement in infections. The essential oils assayed were selected after reviewing bibliography referred to a total of 203 species. In vitro assays were performed by the agar-diffusion technique and our results show a marked activity in 26 out of the 85 essential oils tested.

Introducción

Los aceites esenciales (AE) se definen como la porción volátil que se obtiene a partir de una droga vegetal cuando se somete a un proceso de destilación en corriente de vapor de agua, o por prensado del pericarpio de las especies del género Citrus, no considerándose otros métodos de obtención (esencia concreta, absoluta o deterpenada) como oficinales según la Farmacopea.

Se encuentran muy extendidos en el mundo vegetal (Coníferas, Lauráceas, Umbelíferas, etc.), localizándose en distintos órganos (flores, frutos, hojas, cortezas, etc.) pero presentan generalmente un rendimiento de obtención muy bajo (0.1-1%).

Son mezclas complejas, tanto que a veces superan los 100 componentes distintos, pudiéndose clasificar en:

- compuestos derivados terpenoides
- compuestos derivados del fenil propano
- compuestos de origen diverso (ácidos, cetonas, etc.)

Los factores que modifican su composición, además de los producidos durante el transcurso de la obtención y conservación son:

1. Origen botánico del aceite esencial

Es decir la especie botánica de la cual procede y la variedad en su caso, No siendo correcto utilizar el nombre genérico o común ya que por ejemplo el término Orégano podría englobar no sólo al género Origanum sino también a Lippia, Corydothymus, Thymus, etc. Además debería especificarse el órgano recolectado porque la composición puede ser distinta. Así por ejemplo en la especie Cinnamomum zeylanicum se aislan respectivamente como componentes mayoritarios: fenoles en sus hojas, aldehídos en la corteza y cetonas en las raíces.

2. Quimiotipo

Debido a que muchas especies son capaces de hibridarse

entre sí. Por ejemplo la especie *Thymus vulgaris* presenta 8 quimiotipos distintos (carvacrol, timol, geraniol, linalol, a-terpineol, trans-tuyanol, cis-mircenol, eucaliptol).

3. Ciclo vegetativo

Según cuando se realiza la recolección al principio o al final de la floración.

4. Condiciones ambientales

El clima, las características del suelo, el tipo de riego son factores influyentes. Así por ejemplo son distintas las características de los AE de Rosmarinus officinalis cuya procedencia sea de España, Marruecos o Provenza.

5. Proceso de extracción

Según sea por hidrodestilación o mediante prensado

Debido a esta gran cantidad de factores que pueden influir en la composición final de los AE es necesario establecer un control de calidad adecuado basado en las características organolépticas y propiedades físicas y químicas. Los componentes de cada AE se identifican según el perfil cromatográfico obtenido mediante la Cromatografia de gases o aún mejor, la técnica combinada Cromatografía de Gases/Espectrometria de masas (Fig. 1).

Los AE presentan generalmente actividades farmacológicas diferentes a las que se observan para las plantas de origen, así los extractos de Rosmarinus officinalis tienen propiedades coleréticas mientras que su AE es predominantemente antiséptico.

Actúan a distintos niveles del organismo como son:

- Sistema Nervioso Central: Estimulantes, sedantes
- Sistema Respiratorio: Antibacterianos, expectorantes
- Sistema Digestivo: Carminativos, antibacterianos, vermífugos.
- Cutáneo: Antifúngicos y antibacterianos, antiinflamatorios, irritantes, etc.

Aparte de estas propiedades farmacológicas también se han detectado fenómenos de toxicidad asociados con los AE y que dependen en algunos casos de su dosificación o de la procedencia del mismo. Así, la tuyona puede provocar crisis epileptiformes y tetaniformes, el mentol espasmos de glotis, el anetol en el caso de los AE mal conservados de las Umbelíferas puede producir cuadros convulsivos etc.

Las formas de administración más usuales son la vía oral, tópica, rectal y también por difusión atmosférica. Sin embargo determinados autores prefieren utilizar derivados deterpenados para mejorar su tolerancia a nivel de las mucosas (rectal, vaginal etc.).

En resumen el uso de los AE plantea el problema de su variabilidad (origen, composición, comercialización, etc); por ello, la Aromatoterapia debe utilizar AE estandarizados botánica y bioquímicamente. Ejemplo: *Melaleuca quinquenervia* (o.p. hojas), (sb.1,8 cineol, viridiflavol).

Los AE

presentan

actividades

farmacológicas

diferentes a las

de las plantas de

origen

La aromatoterapia es la parte de la fitoterapia que emplea terapéuticamente los AE de distintas plantas. Estos como hemos reseñado hasta ahora están dotados de distintas propiedades dada la gran cantidad de combinaciones químicas que contienen. Por esto, no se deben aislar los componentes mayoritarios ya que el conjunto de ellos hace que tengan una actividad superior y a veces distinta al de sus componentes por separado. En general su acción es de tipo metabólico y antimicrobiano.

El aromatograma es una técnica analítica que comprueba la actividad antimicrobiana de los AE de manera similar a los antibióticos en el antibiograma. Aunque generalmente las dosis a las que se pautan en los tratamientos por vía oral son más reducidas con respecto a las concentraciones mínimas inhibitorias con el fin de evitar su toxicidad.

De acuerdo con los fitoterapeutas además de tener los AE una actividad antimicrobiana en el organismo producen una modificación del terreno.

Mediante el aromatograma se puede conocer el perfil aromático del microorganismo aislado de una muestra patológica (orina, heces, etc.) o bien a partir de distintas muestras pasando de ser un test antimicrobiano a considerarse como una exploración general del terreno del paciente.

Los resultados a efectos prácticos se expresan como sensibles, intermedios y resistentes o mediante el índice aromático (0 a 100%).

En la prescripción de los AE se suelen asociar tres o más de alto índice aromático.

El aromatograma debe realizarse de forma protocolizada como una técnica de Microbiología Clínica, es decir aislando el microorganismo de la muestra (salvo en la exploración general) y utilizando los mismos AE que los que se emplearán posteriormente en el tratamiento.

Se ha comprobado que el perfil aromático de un mismo microorganismo difiere según pacientes y muestras patológicas. Pueden utilizarse aisladamente, después de un tratamiento antibiótico o como tratamiento de terreno, siendo de gran utilidad en las infecciones recidivantes.

De esta forma la aromatoterapia dispone de una técnica de tipo científico y experimental: el aromatograma.

Materiales y métodos

Los microorganismos utilizados fueron:

Escherichia coli CECT 515 Staphylococcus aureus CECT 239 Candida albicans ATCC 26555

Las cepas se mantuvieron mediante resiembras periódicas en agar nutritivo (37°C) para las bacterias y en agar Sabouraud (30°C) para las levaduras. Los AE se obtuvieron de los laboratorios Phyto Sun Arôms (Intersa S.A).

La técnica de difusión en agar se realizó a partir de inóculos obtenidos en solución salina isotónica con una D.O similar a la escala 1 de Mac-Farland, sembrando posteriormente los microorganismos en placas de medio sólido mediante la técnica de crecimiento en manta, empleándose agar Mueller Hinton para las bacterias (37°C) y agar Sabouraud (30°C) para las levaduras. Los AE se distribuían posteriormente en el medio según técnica personal del autor.

La lectura se realizó midiendo el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento (en mm) que se obtuvieron tras 24 horas de incubación a las temperaturas indicadas, clasificando según los resultados obtenidos a los microorganismos como sensibles (+, ++, +++), intermedios (I) y resistentes (R).

Resultados

Hemos analizado a través de los correspondientes aromatogramas 85 aceites esenciales bien tipificados, de los que treinta y nueve manifestaron muy baja o nula actividad antimicrobiana frente a los tres microorganismos ensayados. Dichos aceites esenciales se recopilan en la Tabla 1.

De los 45 AE restantes, se recogen en Tabla 2 los 26 AE que resultaron activos en mayor o menor grado, pero siempre con índices aromáticos superiores al 25%, sobre los tres microorganismos.

Como puede apreciarse, algunos de ellos son muy eficaces, de tal forma que llegan a alcanzar IA por encima del 50%. Estas características las presentan los siguientes AE:

Carum copticum 78%
Cinnamomum cassia 100%
Cinnamomum zeylanicum 56%
Melaleuca alternifolia 50%
Origanum compactum 89%
Origanum majorana 89%

Tabla 1: Aceites esenciales que presentan nula o escasa actividad antimicrobiana

Abies pectinata
Abies sibirica
Anethum graveolens
Cananga odorata
Citrus auriantum var. amara
(op. hojas)
Citrus auriantum var. amara
(op. flores)
Citrus limonum
Citrus reticulata
Curcuma longa
Eucalyptus globulus
Eucalyptus polybractea
Eucalyptus radiata
Helichrysum italicum

Humulus lupulus
Hyssopus officinalis
Juniperus communis (op. ramas)
Juniperus virginiana
Laurus nobilis
Lavandula spica
Lavandula stoechas
Lavandula vera
Matricharia chamomilla
(op. flores)
Matricharia chamomilla
(op. capítulos)
Mentha citrata
Mentha pulegium

Mentha viridis
Myristica fragans
Myrtus communis
(op. ramas)
Ocimum gratissimum
Ocimum basilicum
(o. Egipto)
Pinus pinaster (op. aguja)
Pinus pinaster (op. resina)
Piper cubeba
Ravensara anisata
Santolina chamaecyparissus
Sassafras albidum
Solidago canadensis
Tanacetum annuum

Op: órgano productor; O: origen

Nota del autor: No se detalla la especificidad botánica y bioquímica de cada especie utilizada por no extender el contenido de la tabla, remitiéndose para la valoración de estos datos a los laboratorios. Intersa S.A.

Tabla 2: Aceites esenciales con mar	rcada actividad antimicrobiana (I.A. >0,25
-------------------------------------	--

Mentha sylvestris

ACEITE ESENCIAL	ORGANO PRODUCTOR ESPECIFICIDAD BIOQUMICA	ACTIVIDAD*			
		I.A	CA	EC	SA
Carum copticum	semilla	0.78	+++	++	++
Cinnamomum cassia	ramas con hojas	1.00	+++	+++	+++
Cinnamomum zeylanicum	corteza				
	aldehido cinámico	0.56	+++	I	++
Cinnamomum zeylanicum	hojas	0.22			
	eugenol, safrol	0.33	+	+	+
Cymbopogon citratus	planta entera	0.39	+++	R	I
Cymbopogon winterianus	planta entera	0.28	+	Ι	+
Eugenia caryophyllata	botones florales eugenol, acetato de eugenilo	0.28	++	R	Į
Eugenia caryophyllata	clavos eugenol, b-cariofileno	0.44	+	+	++
Hyssopus montana	sumidad florida	0.28	+	+	Ι
Lavandula officinalis	flores	0.28	I	+	I
Lippia citriodora	tallo florido	0.28	+++	R	I
Melaleuca alternifolia	ramas	0.5	I	+++	+
Melaleuca quinquenervia	hojas	0.44	+	++	+
Mentha piperita	sumidad florida	0.39	++	R	+
Myrtus communis	ramas	0.39	+	I	++
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol	0.33	+	+	+
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol + metil-eugenol	0.44	+	+	++
Origanum compactum	sumidad florida	0.89	++	+++	+++
Origanum majorana	sumidad florida 4-terpineol	0.33	R	++	+
Origanum majorana	sumidad florida tuyan-4-ol, carvacrol	0.89	++	+++	+++
Satureia hortensis	sumidad florida	1.00	+++	+++	+++
Satureia montana	sumidad florida	0.89	+++	++	+++
Thymus satureioides	sumidad florida	0.56	+	++	++
Thymus serpyllum	sumidad florida	0.44	+	4	++
Thymus vulgaris	sumidad florida linalol	0.56	++		++
Thymus vulgaris	sumidad florida timol	0.56	+	++	++

ACTIVIDAD*

I.A: Indice aromático, CA, EC, SA: Código de cruces correspondiente a la actividad frente a Candida albicans (CA), Escherichia coli (EC) y Staphylococcus aureus (SA).

Satureia hortensis 100% Satureia montana 89% Thymus satureioides 56% Thymus vulgaris (Linalol) 56% Thymus vulgaris (Timol) 56%

En las Tablas siguientes se reunen de forma individualizada las muestras que resultaron activas frente a *C. albi-* cans: 32 (Tabla 3), E.coli: 26 (Tabla 4) y S. aureus: 26 (Tabla 5).

Existen AE con actividad exclusiva para un sólo microorganismo

Candida albicans: Cinnamomum glaucescens Citrus ladaniferus
Cymbopogon citratus
Cymbopogon nardus
Eugenia caryophyllata (op. botones florales)
Gaultheria procumbens
Lavandula hybrida
Lippia citriodora
Pelargonium graveolens (geraniol, ésteres)

Pelargonium graveolens (citronelol, geraniol, linalol)

E. coli:
Abies balsamea
Cuminum cyminum
Juniperus communis (op.
ramas fructificadas)
Lavandula officinalis
Petroselinum sativum
Peumus boldus
Pinus sylvestris

S. aureus:
Cupressus sempervirens
Mentha arvensis
Ravensara aromatica
Rosmarinus officinalis

Tabla 3: Aceites esenciales con marcada actividad frente a Candida Albicans

CEITE ESENCIAL	ORGANO PRODUCTOR ESPECIFICIDAD BIOQUMICA	ACTIVIDAD CA	
Carum carvi	semillas	+	
Carum copticum	semillas	+++	
Cinnamommum cassia	ramas con hojas	+++	
Cinnamomum glaucescens	bayas	+	
Cinnamomum zeylanicum	corteza aldehido cinámico	+++	
Cinnamomum zeylanicum	hojas eugenol, safrol	+	
Citrus ladaniferus	ramas	++	
Cymbopogon citratus	planta entera	+++	
Cymbopogon martinii	planta entera	+	
Cymbopogon nardus	planta entera	+	
Cymbopogon winteriamus	planta entera	, +	
Eugenia caryophyllata	botones florales eugenol, acetato de eugenilo	++	
Eugenia caryophyllata	clavos eugenol, b-cariofileno	+	
Gaultheria procumbens	planta entera	+ -	
Hyssopus montana	sumidad florida	+	
Lavandula hybrida	flores	+	
Lippia citriodora	tallo florido	+++	
Melaleuca quinquenervia	hojas	+	
Mentha piperita	sumidad florida	++	
Myrtus communis	ramas	+	
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol	+	
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol + metil-eugenol	+4	
Origanum compactum	sumidad florida	++	
Origanum majorana	sumidad florida tuyan-4-ol, carvacrol	++	
Pelargonium graveolens	hojas geraniol, ésteres	++	
Pelargonium graveolens	hojas citronelol, geraniol, linalol	+	
Satureia hortensis	sumidad florida	+++	
Satureia montana	sumidad florida	+++	
Thymus satureioides	sumidad florida	+	
Thymus serpyllum	sumidad florida	+	
Thymus vulgaris	sumidad florida linalol	++	
Thymus vulgaris	sumidad florida timol	+	

Conclusiones

- 1. Se comprueba en este estudio la distinta actividad antimicrobiana que poseen los aceites esenciales y que varian:
- según la especie dentro de un mismo género, ejemplo: Mentha piperita respecto a M. citrate, M. pulegium, M. sylvestris y M. viridis. Lavandula officinalis frente a L. stoecha, L. spica y L. vera.
- según el órgano productor: Cinnamomum zeylanicum (corteza y hojas), Eugenia caryophyllata (flores, clavos), etc.
- según la especificidad bioquímica: Origanum majorana (quimiotipo 4-terpineol frente al quimiotipo tuyan-4-ol, carvacrol), Ocinum basilicum (metil-chavicol, o metil-chavicol + metil-eugenol), Thymus vulgaris (linalol, timol).
- 2. Los índices aromáticos para los tres microorganismos coinciden con H. Saada y P. Belaiche excepto con *Carum copticum* (I.A 78%) y *Cinnamomum cassia* (ramas jóvenes y hojas) (I.A 100%), también cabe destacar la mayor efectividad de *Satureia hortensis* y *S. montana* respecto a la bibliografia consultada.
- 3. Para Candida albicans encontramos una mayor actividad del Cymbopogon (4 especies) con respecto a la bibliografia consultada, así como la alta efectividad del Carum copticum y Lippia citriodora.
- 4. Para Escherichia coli el aceite esencial de Carum copticum.

- 5. Para Staphylococcus aureus los aceites esenciales de Carum copticum, Myrtus communis, Ocinum basilicum y Rosmarinus officinalis.
- 6. Convendrá utilizar una aromateca de unos 50 aceites esenciales para cubrir un mayor espectro y poderlos utilizar como complemento tanto por su actividad de "terreno" como por el origen del producto patológico por su mayor biodisponibilidad a ese nivel.

Debido al especial interés que hoy en día tienen las infecciones producidas por Candida albicans, sería interesante realizar un estudio complementario utilizando estos aceites esenciales frente a distintas cepas (tanto de colección, como aisladas de productos patológicos) con el fin de fijar unas bases terapeúticas que sirvieran para su uso pautado en el tratamiento de las micosis vaginales de repetición, onicomicosis, micosis bucofaríngeas y las producidas por inmunodeficiencias. Sin olvidar, el papel potencial que pueden tener los aceites esenciales en otros campos como son: alimentación (conservantes y saborizantes), cosmetología, estomatología, etc.

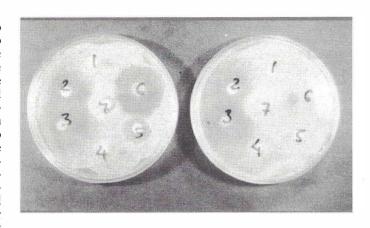


Fig. 2. Aromatograma realizado frente a *Escherichia coli*. Obsérvense los halos de inhibición del crecimiento que producen los distintos aceites esenciales ensayados.

Tabla 4: Aceites esenciales con marcada actividad frente a Escherichia coli

ACEITE ESENCIAL	ORGANO PRODUCTOR ESPECIFICIDAD BIOQUMICA	ACTIVIDAD EC
Abies balsamea	agujas	+13/15
Carum carvi	semillas	+
Carum copticum	semillas	++
Cinnamomum cassia	ramas con hojas	+++
Cinnamomum zeylanicum	hojas eugenol, safrol	+
Cuminum cyminum	semillas	+
Eugenia caryophyllata	clavos eugenol, b-cariofileno	+
Hyssopus montana	sumidad florida	+
Juniperus communis	ramas fructificadas	+
Lavandula officinalis	flores	+
Melaleuca alternifolia	ramas	+++
Melaleuca quinquenervia	hojas	++
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol	+
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol + metil-eugenol	+
Origanum compactum	sumidad florida	+++
Origanum majorana	sumidad florida 4-terpineol	++
Origanum majorana	sumidad florida tuyan-4-ol, carvacrol	+++
Petroselinum sativum	planta entera	+
Peumus boldus	hojas	**
Pinus sylvestris	agujas	+
Satureia hortensis	sumidad florida	+++
Satureia montana	sumidad florida	++
Thymus satureioides	sumidad florida	++
Thymus serpyllum	sumidad florida	+
Thymus vulgaris	sumidad florida linalol	+
Thymus vulgaris	sumidad florida timol	++

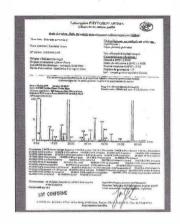


Figura 1. Perfil cromatográfico de una muestra de aceite esencial de *Satureia montana*

Agradecimientos

El autor desea expresar su agradecimiento a la empresa Intersa S.A., por su colaboración económica y donación de los aceites esenciales utilizados en las experiencias. A la Dra. Mª Carmen Zafra-Polo y especialmente a la Dra. Hortensia Rico por sus revisiones al trabajo realizado.

Bibliografía

1. Asociación española de Médicos Naturistas. Colegio Ofi-

- cial de Farmaceúticos de Vizcaya. Fitoterapia. Vademecum de Prescripción. Ed. Citape S.L., Bilbao, 1992.
- 2. Bego, G.V. Los aceites esenciales. Ed. Jakin, Francia, 1998.
- 3. Belaiche, P. Traité de phytothérapie et d' aromathérapie. Ed. Maloine S.A. Paris. 1979.
- 4. Del Pozo Carrascosa, A. Aromaterapia: Aspectos farmaceúticos. De natura rerum, 1992, 6,4, 281-282.
- 5. Dietéticos Intersa S.A. Aromaterapia

- 6. Fitoterapia Aplicada. Ed. Micof, Valencia, 1995.
- 7. Institute of Aromatherapy Ramashânti. Aromaterapia. Ed. Jankin, 1995.
- 8. Laboratoire Phytosun Arôms. Les Cahiers de l'aromathérapie, Francia, 1995, nº 1.
- 9. Laboratoire Phytosun Arôms. Les Cahiers de l'aromathérapie, Francia, 1995, n° 2.
- 10. Malhuret, R., Bastide, P y Joly, B. Essai d'utilisation pratique d'hüiles essentielles en milieu hospitalier. Phytotherapy, 1984, n° 11, 17-27.

- 11. Meyer, J.B. Abrégé de Phytopratique Medicale. Ed. L. Pariente. Strasbourg, 1981.
- 12. Morin, J., Malhuret, R y Bastide, P. Utilisation des huiles essentialles en thérapeutique. Phytotherapy, 1984, n° 7, 9-14.
- 13. Pellecuer, J., Allegrini, J. y Simeon de Bouchberg, M. Hüiles essentielles bactericides et fongicides. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, 1976, n° 2, 135-159.
- 14. Saada, H. L'aromatogramme. Institut d'enseignement de Phytothérapie et de medicine globale, 1984, 20, 37-43.
- 15. Sebastiá, C., Rico, H, y Roda, J. Aceites esenciales, Offarm, 1985, vol 4, n° 3, 25-30.
- 16. Sebastiá, C., Rico, H, y Roda, J. Aceites esenciales, Natura Medicatrix, 1985, nº 11, 26-29.
- 17. Viand, H., Lamblin J. y Dufour, J.M. Hüiles essentielles. Hydrolets. Ed. Presence, Francia, 1983.
- 18. Yousef, R.T. y Tauril G.G. Antimicrobial activity of volatile oils. Pharmazie, 1980, H.11, 35, 698-701.
- 19. Zafra-Polo Carreras, M.C. Comunicación personal.
- 20. Anónimo. El aromatograma. Fitoterapia, 1988, 12-14.

Tabla 5: Aceites esenciales con marcada actividad frente a Staphylococcus aureus

ACEITE ESENCIAL	ORGANO PRODUCTOR ESPECIFICIDAD BIOQUMICA	ACTIVIDAD SA	
Carum copticum	semillas	++	
Cinnamommum cassia	ramas con hojas	+++ *	
Cinnamomum zeylanicum	corteza aldehido cinámico	++	
Cinnamomum zeylanicum	hojas eugenol, safrol	+	
Cupressus sempervirens	ramas	+ .	
Cymbopogon martinii	planta entera	+	
Cymbopogon winteriamus	planta entera	+	
Eugenia caryophyllata	clavos eugenol, ß-cariofileno	++	
Melaleuca altermifolia	ramas	+	
Melaleuca quinquenervia	hojas	• •	
Mentha arvensis	sumidad florida		
Mentha piperita	sumidad florida	+	
Myrtus communis	ramas	++	
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol	+	
Ocimum basilicum	planta entera metil-chavicol + metil-eugenol	++	
Origanum compactum	sumidad florida	+++	
Origanum majorana	sumidad florida 4-terpineol	+	
Origanum majorana	sumidad florida tuyan-4-ol, carvacrol	+++	
Ravensara aromatica	hojas	+	
Rosmarinus officinalis	hojas	++	
Satureia hortensis	sumidad florida	+++	
Satureia montana	sumidad florida	+++	
Thymus satureioides	sumidad florida	++	
Thymus serpyllum	sumidad florida	++	
Thymus vulgaris	sumidad florida linalol	.++	
Thymus vulgaris	sumidad florida timol	++	