

## Artículo Original

### Micología

Kasmera 48(2):e48231 678, Julio-Diciembre, 2020

ISSN 0075-5222 E-ISSN 2477-9628

<https://doi.org/10.5281/zenodo.3951044>



# Actividad antifúngica del aceite volátil de *Hedyosmum* sp., frente a especies del género *Candida*

## *Antifungal activity of the volatile oil of Hedyosmum sp., Against species of the genus Candida*

Lucena María E <sup>1,2</sup>, Latorre N Katty <sup>3</sup>, Ustáriz Francisco J <sup>4,5</sup>, García Víctor <sup>2</sup>, Rojas Fermín Luís <sup>6</sup>, Monge M Adriana <sup>1</sup>, Cáceres M Verónica <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera Laboratorio Clínico. Grupo de Investigación "Análisis de Muestras Biológicas y Forenses". Riobamba-Chimborazo. Ecuador. <sup>2</sup>Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ingeniería. Grupo de Investigación Clean Energy and Environment. Riobamba-Chimborazo. Ecuador. <sup>3</sup>Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Riobamba-Chimborazo. Ecuador. <sup>4</sup>Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Escuela de Bioanálisis. Grupo de Investigación de Análisis Instrumental. Mérida-Mérida. Venezuela. <sup>5</sup>Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera de Medicina. Riobamba-Chimborazo. Ecuador. <sup>6</sup>Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Instituto de Investigaciones. Sección Productos Naturales. Mérida-Mérida. Venezuela.

### Resumen

El objetivo del estudio fue determinar la actividad antifúngica del aceite volátil de las partes aéreas de la especie vegetal *Hedyosmum* sp., frente al complejo *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*. El material vegetal se recolectó del bosque natural Jacarón, Provincia de Chimborazo, Ecuador. La extracción del aceite volátil se realizó por hidrodestilación, obteniéndose un rendimiento de 0,09%. La actividad antifúngica fue estudiada mediante el método de difusión en agar y los resultados se interpretaron mediante detección-medición de halos de inhibición y concentración mínima inhibitoria. El estudio se realizó partiendo del aceite puro y diluciones con dimetil sulfóxido. Los resultados se validaron mediante controles positivos (Fluconazol) y negativos (dimetil sulfóxido). El aceite puro mostró actividad antifúngica frente a *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, pero no frente a *C. glabrata*. Mientras que, la actividad antifúngica determinada empleando diluciones del aceite permitió establecer la concentración mínima inhibitoria para *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, en  $0,25 \times 10^6$  µg/mL y para *C. albicans* en  $0,5 \times 10^6$  µg/mL. Estos resultados concluyeron que el aceite volátil de *Hedyosmum* sp., presenta actividad antifúngica poco significativa frente a tres de las cuatro especies de *Candida* estudiadas.

**Palabras claves:** *Hedyosmum* sp., antifúngicos, aceites volátiles, *Candida*, concentración mínima inhibitoria

### Abstract

The objective of the study was to determine the antifungal activity of the volatile oil of the aerial parts of the plant species *Hedyosmum* sp., against *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. parapsilosis* complex. The plant material was collected from the Jacarón natural forest, Chimborazo Province, Ecuador. The extraction of the essential oil was carried out by hydro-distillation, obtaining a yield of 0.09%. Antifungal activity was studied by means of the diffusion in agar method and the results were interpreted by detection-measurement of inhibition halos and minimum inhibitory concentration. The study was carried out starting from the pure oil and dilutions with dimethyl sulfoxide. The results were validated by positive controls (Fluconazole) and negative controls (dimethyl sulfoxide). The pure oil showed antifungal activity against *C. albicans*, *C. tropicalis*, and *C. parapsilosis* complex, but not against *C. glabrata*. While, the antifungal activity determined using dilutions of the oil allowed establishing the minimum inhibitory concentration for *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* complex, at  $0,25 \times 10^6$  µg/mL and for *C. albicans* at  $0,5 \times 10^6$  µg/mL. These results concluded that the volatile oil of *Hedyosmum* sp., Presents little antifungal activity against three of the four *Candida* species studied.

**Keywords:** *Hedyosmum* sp., antifungals, volatile oils, *Candida*, minimum inhibitory concentration

**Recibido:** 19-04-2020

**Aceptado:** 09-06-2020

**Publicado:** 20-07-2020

**Como Citar:** Lucena ME, Latorre NK, Ustáriz FJ, García V, Rojas FL, Monge MA, Cáceres MV. Actividad antifúngica del aceite volátil de *Hedyosmum* sp., frente a especies del género *Candida*. *Kasmera*. 2020;48(2):e48231 678. doi: 10.5281/zenodo.3951044

**Autor de Correspondencia:** Lucena María E. E-mail: [mlucena@unach.edu.ec](mailto:mlucena@unach.edu.ec)

Una lista completa con la información detallada de los autores está disponible al final del artículo.

©2020. Los Autores. **Kasmera**. Publicación del Departamento de Enfermedades Infecciosas y Tropicales de la Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons atribución no comercial (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre y cuando la obra original sea debidamente citada.



## Introducción

La industria farmacéutica ha obtenido del reino vegetal la materia prima necesaria para la elaboración de casi el 30% de los productos farmacéuticos que hoy emplea la medicina. La medicina moderna, pese a los enormes avances científicos y tecnológicos, reconoce sus limitaciones en la solución de muchos de los problemas de salud que todavía aquejan a la humanidad, lo que genera la necesidad de buscar nuevas soluciones a esta problemática sanitaria (1). En los últimos años se han realizado numerosas investigaciones orientadas a buscar terapias antimicrobianas como opción alterna a los tratamientos con antibióticos conocidos debido al alto índice de resistencia y multiresistencia que presentan los patógenos microbianos en todo el mundo. Este problema de salud pública involucra a todos los países y estamentos mundiales debido a su impacto en la salud, como en el costo-beneficio que implica tratar estas patologías (2). Frente a este panorama la Organización Mundial de la Salud está promoviendo la investigación y el uso prudente de las plantas medicinales como principio activo (3).

El uso ancestral de sustancias de origen vegetal con fines terapéuticos y antimicrobianos, ha llevado a investigar nuevas sustancias a partir de plantas consideradas popularmente medicinales (4). Los aceites volátiles son las fracciones líquidas volátiles que se obtienen generalmente de las hojas. Son mezclas complejas de metabolitos secundarios caracterizados por un fuerte olor, por lo general con densidades menores que la del agua, destilables, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas; se biosintetizan y acumulan en las plantas aromáticas y tienen una amplia gama de aplicaciones en las industrias farmacéutica, cosmética, alimentaria y agrícola (5).

Entre la gran biodiversidad mundial de plantas se encuentra la familia Chloranthaceae constituida por hierbas, arbustos y árboles; nativa de los trópicos y el sur de las regiones templada. El género *Hedyosmum* pertenece a esta familia y consta de 45 especies, de las cuales 44 se encuentran en el Neotrópico de montaña y una (*H. orientale* Merr. & Chun) en el Sudeste Asiático (6,7). En el Ecuador el género *Hedyosmum* presenta 16 especies endémicas del bosque nublado andino alto y subpáramos (entre 600 y 3000 msnm) del sur del país. El centro de Los Andes se constituye como eje de diversificación y es allí donde se encuentra alrededor del 50% de sus especies (8). Las especies del género *Hedyosmum* (conocida como Tarqui) tienen una larga historia de uso en la medicina tradicional del Ecuador, con una variedad de propiedades biológicas/farmacológicas interesantes que han sido científicamente confirmadas (9).

Las enfermedades infecciosas son causadas por microorganismos patógenos como bacterias, virus, parásitos u hongos. En las infecciones por hongos el tratamiento adecuado en diferentes ocasiones no es el más efectivo, a pesar de que el diagnóstico haya sido temprano y de haber escogido el antifúngico apropiado,

por lo que hay un fracaso terapéutico relacionado con las condiciones del paciente provocando resistencia a los antifúngicos del hongo causantes de la infección. Esta resistencia también se ve facilitada por el uso inadecuado de los antifúngicos, dosis inapropiadas, tratamiento sin prescripción médica y las deficiencias en la prevención y control de las infecciones, entre otros, los cuales son factores que facilitan la aparición y la propagación de la farmacoresistencia. (10,11).

Las infecciones por levaduras del género *Candida* sp., son cada vez más prevalentes en pacientes hospitalizados, especialmente en grupos de mayor riesgo como pueden ser pacientes con neoplasia hematológica bajo tratamiento de quimioterapia y en cuidados intensivos. De todas las infecciones micóticas sistémicas, es la candidiasis la que cobra mayor importancia por su frecuencia y hacia la cual se dirigen grandes esfuerzos en los programas de vigilancia (12). La candidiasis invasiva afecta a más de 250,000 personas por año en todo el mundo y provoca más de 50,000 muertes y es la micosis más común entre los pacientes hospitalizados en los países desarrollados. Comprende la candidemia y la candidiasis de los tejidos profundos y la mortalidad entre los pacientes con candidiasis invasiva es de hasta el 40%, incluso en los pacientes que reciben tratamiento (13). La candidemia y la candidiasis invasiva son las principales causas de morbilidad y mortalidad, y su incidencia está aumentando debido a la creciente complejidad de los pacientes. Cinco especies de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*) representan más del 90% de todos los casos diagnosticados, pero su frecuencia relativa varía según la población involucrada, la región geográfica, la exposición antifúngica previa y edad del paciente (14). *Candida albicans* es la especie predominante de candidiasis sistémica además de su alta frecuencia, en los últimos años se ha detectado un incremento en la aparición de cepas resistentes a los tratamientos antifúngicos habituales (15). Las tasas de incidencia están en aumento o estables en casi todas las regiones, aunque se han informado tasas en disminución en zonas de alta incidencia tras mejoras en la higiene. Además, el desplazamiento global a favor de las especies de *Candida* no *albicans* es preocupante, al igual que la resistencia a los antimicóticos (16).

La resistencia de *Candida* sp., a los antifúngicos representa un reto terapéutico que deja un menor número de posibilidades para el tratamiento de estas infecciones que se caracterizan, a su vez, por una alta morbimortalidad (12). La resistencia a los antifúngicos también ha evolucionado con el transcurso de los años, aunque con menos impacto clínico y epidemiológico que en bacterias. Recientemente, la OPS/OMS emitió una alerta en la región de Latinoamérica relacionada con *Candida auris*, identificado como un patógeno humano desde 2009 en Japón y ha sido causa de brotes afectando a Venezuela y Colombia. La resistencia a fluconazol, voriconazol y anfotericina B fue evidente en este patógeno emergente; por lo que ratifica la

trascendencia en la actualidad de la resistencia a antifúngicos por hongos de importancia clínica (17).

El Fondo de Acción Mundial para las Infecciones por Hongos (GAFFI siglas en inglés) ha realizado un programa de estimaciones para demostrar, país por país, el número de personas afectadas por enfermedades micóticas graves a nivel mundial. En este contexto, entre los 14 países más afectados en todo el mundo, se incluye el Ecuador. El estudio realizado en Ecuador cuyo objetivo fue estimar la carga de enfermedades micóticas a través de la utilización de datos de incidencia o prevalencia local, mediante la aplicación de cálculos basados en estudios de cohortes, ensayos clínicos y tasas de infecciones documentadas en grupos similares de pacientes en otros lugares, estimó que el 3% (433,856 individuos) de la población ecuatoriana puede tener o puede estar afectada por una infección severa por hongos (18).

La distribución de las especies del género *Candida* cambió en las últimas décadas. *C. albicans* ha sido la especie más aislada, hoy representa casi la mitad de las cepas detectadas. *Candida glabrata* surgió como microorganismo importante en Europa del norte, los EEUU y Canadá, mientras que *Candida parapsilosis* predomina en el sur de Europa, en Asia y en América del sur. Estos cambios se deben tener en cuenta para el tratamiento, ya que cada especie tiene diferente sensibilidad. La virulencia de cada especie también es muy diferente. *Candida parapsilosis* y *C. krusei* son menos virulentas que *C. albicans*, *C. tropicalis*, y *C. glabrata*. A pesar de su baja virulencia, *Candida parapsilosis* puede crecer muy bien en algunos ambientes debido a su capacidad para adherirse a los dispositivos médicos y suele ser la segunda especie del género *Candida* más frecuentemente aislada de las manos del personal de salud, características que facilitan los brotes intrahospitalarios (13).

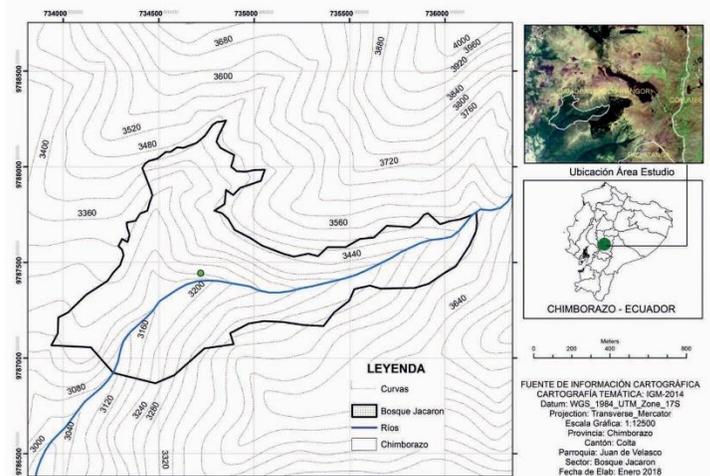
Con base en lo antes mencionado se estableció como objetivo principal la determinación de la actividad antimicótica del aceite volátil de las partes aéreas de *Hedyosmum* sp., recolectado en el bosque natural Jacarón de Ecuador frente a cuatro especies del género *Candida*, mediante el método de difusión en agar y contribuir al desarrollo de futuras investigaciones.

## Métodos

**Tipo y diseño de la investigación:** el estudio es de nivel descriptivo con diseño experimental, de corte transversal y carácter mixto.

**Recolección de material vegetal:** las partes aéreas de *Hedyosmum* sp., fueron recolectadas de forma manual entre abril y agosto de 2019, en el bosque natural de Jacarón, ubicado en la parroquia Juan de Velasco, cantón Colta, provincia de Chimborazo, Ecuador (1°55'16.36158333"S, 78°53'14.99493303"W; coordenadas UTM: x = 735000. y = 9787500, zona 17S) (Figura 1). El bosque cubre una superficie de 106 ha, con un rango altitudinal de 3200-3480 m de altitud, con temperaturas que oscilan entre 9 a 12 °C y una precipitación anual de 1200 mm. Los

suelos están formados por cenizas volcánicas, con altos contenidos de materia orgánica, valores de pH entre 5,5 y 6,5; clasificados a nivel de gran grupo como Dystrandepts en el orden de inceptisoles, correspondiendo a suelos jóvenes de poco desarrollo que presentan gran acumulación de materia orgánica y saturación de bases menor al 50% (19). Las muestras (ramas, hojas, flores frescas) se conservaron en sacos de polietileno, y fueron colocadas en resguardo en un lugar limpio y libre de humedad hasta su procesamiento.



**Figura 1.** Bosque natural del ecosistema Jacarón ubicado en la parroquia Juan de Velasco, Provincia de Chimborazo. Ecuador (19).

**Extracción del aceite volátil:** se seleccionó el material a utilizar 2000 g (ramas, hojas, flores frescas), posteriormente se lavaron con agua potable y finalmente fueron troceadas y licuadas y se procedió a la extracción por el método de hidrodestilación mediante la utilización de la trampa de Clevenger, durante 4-5 horas a una temperatura entre 50-60 °C tal como lo especifica la Farmacopea Oficial Italiana (20). El aceite que se obtuvo se decantó y se trató con sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua remanente; seguidamente se almacenó en tubos Eppendorf estériles bajo condiciones de refrigeración (4 °C) y oscuridad hasta su uso para ensayos biológicos. El rendimiento fue calculado en base de la masa del aceite y de la masa del material fresco utilizado en la extracción (21).

**Actividad antifúngica:** la actividad antifúngica se evaluó de acuerdo al método de difusión en agar con discos (22), utilizando cuatro cepas del género *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, y *C. glabrata*) proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Cuenca-Ecuador. Se usaron 25 mL de agar Mueller Hinton Suplementado (38g/L de agar Mueller Hinton, 20g de glucosa y 0,25mL de azul de metileno) y se esteriliza por 10 min. El agar fundido a 45°C, fue aseptícamente mezclado con 1 ml de la suspensión fúngica con turbidez equivalente a 1 del patrón McFarland y correspondiente a 1x10<sup>8</sup> Unidades Formadoras de Colonias-UFC/mL, en placas Petri de 90

mm x 15 mm. Una vez solidificado el agar, los discos de papel impregnados (10 µL) con el aceite puro y fueron colocados en el centro de la superficie del medio de cultivo. El proceso se repitió para cada una de las cuatro especies de *Candida*. Así mismo, se realizó el control de calidad positivo para lo cual se empleó como antifúngico de referencia discos con fluconazol 25 µg® y como control negativo discos impregnados con Dimetilsulfóxido (DMSO). Las placas fueron pre incubadas en refrigeración a 4°C durante 30 minutos y luego se incubaron a 37°C durante 24 horas, posteriormente, se realizó la lectura, registrando el diámetro (mm) de los halos de inhibición.

**Determinación de la concentración mínima inhibitoria:** a las cepas de *Candida* que mostraron halos de inhibición frente al aceite volátil puro se les determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI). A partir de una solución madre de concentración  $2 \times 10^6$  µg/mL (2 g de aceite puro y 1 mL de DMSO se prepararon diluciones a concentraciones de:  $2 \times 10^6$ ,  $1,5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $0,5 \times 10^6$ ,  $0,25 \times 10^6$ ,  $0,125 \times 10^6$ ,  $0,062 \times 10^6$  µg/mL. Los discos de papel impregnados (10 µL) con cada una de las diluciones del aceite volátil fueron colocados en la superficie del agar Mueller Hinton Suplementado e inoculado con 1 ml de la suspensión fúngica con turbidez equivalente a 1 del patrón McFarland y correspondiente a  $1 \times 10^8$  Unidades Formadoras de Colonias-UFC/mL, contenido en placas Petri de 90 mm x 15 mm. Las placas fueron pre incubadas en refrigeración a 4°C durante 30 minutos y luego se incubaron a 37°C durante 24 horas. Posteriormente se realizó la lectura, registrando el diámetro de los halos de inhibición. Las pruebas se realizaron por cuatriplicado

para cada cepa en estudio. La CMI es definida como la mínima concentración de un aceite volátil que inhibe el crecimiento visible de un hongo (23).

**Recolección de la información y análisis estadístico:** los resultados de la actividad antifúngica y de la CMI (halos de inhibición) fueron introducidos y tabulados en Microsoft Excel 2010 para el cálculo de la media y desviación estándar de cada ensayo.

## Resultados

Mediante el método de hidrodestilación con Trampa de Clevenger, se obtuvo un volumen total de 1,8 mL de aceite volátil a partir de 2000 g de las partes aéreas (ramas, hojas, flores frescas) de la planta *Hedyosmum* sp., logrando un rendimiento de 0,09% (0,09 mL/100 g de hojas y ramas).

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad en los ensayos de la actividad antifúngica del aceite volátil obtenido a partir de *Hedyosmum* sp frente las diferentes especies del género *Candida*., utilizando en método de difusión en agar se muestran en la [Tabla 1](#).

En la [Tabla 2](#) se muestran los valores de concentración mínima inhibitoria del aceite volátil *Hedyosmum* sp., frente a las tres especies de *Candida* que exhibieron halos de inhibición frente al aceite volátil (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*); mientras que la cepa de *C. glabrata* no mostró ningún halo de inhibición frente a las diferentes concentraciones aceite en estudio.

**Tabla 1.** Actividad antifúngica del aceite volátil de *Hedyosmum* sp., en especies del género *Candida* mediante halos de inhibición expresada en milímetros.

Candida (especies)	Aceite Volátil <i>Hedyosmum</i> sp.								Control Positivo Fluconazol (25µg)	Control negativo DMSO
	Promedio Halos de inhibición (mm) +/- 0,5 SD									
	Aceite puro	Concentraciones (x 10 <sup>6</sup> ) µg/mL								
<i>C. albicans</i>	10	11	11	11	9	0	0	0	16	0
<i>C. glabrata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
<i>C. tropicalis</i>	15	15	16	17	14	11	0	0	37	0
<i>C. parapsilosis</i>	13	13	14	14	12	10	0	0	18	0

**Tabla 2.** Valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenidas con el aceite volátil de *Hedyosmum* sp.; frente a cada especie del género *Candida*., que presentaron halos de inhibición

Candida (especies)	Aceite Volátil ( <i>Hedyosmum</i> sp) CMI (µg/mL)
<i>C. albicans</i>	0,5x10 <sup>6</sup>
<i>C. tropicalis</i>	0,25x10 <sup>6</sup>
<i>C. parapsilosis</i>	0,25x10 <sup>6</sup>

## Discusión

Las plantas aromáticas y sus aceites volátiles se han utilizado tradicionalmente, desde la antigüedad por sus propiedades biológicas, así como para aplicaciones cosméticas y medicinales. En los últimos años, la

investigación sobre plantas aromáticas ha atraído a muchos investigadores basados en la etnobotánica para demostrar su eficiencia en la validación de nuevas formas de compuestos activos (24).

El rendimiento (0,09%) obtenido para el aceite volátil de las hojas y ramas de *Hedyosmum* sp., coincide con el

descrito por Collaguazo en estudio previo para la planta *Hedyosmum* sp (25); pero mayor al rendimiento obtenido por Torres y col., en el estudio a partir de hojas de *Hedyosmum luteynii* (0,071%) (18). Sin embargo, el rendimiento obtenido por Zamora (1,2%) a partir de hojas de *Hedyosmum translucidum*, supera ampliamente al rendimiento alcanzado en este estudio, probablemente debido en parte al método de hidroddestilación asistido por microondas (24); así como a factores relacionados las condiciones climáticas, geográficas, altitud, intensidad de luz, estación anual del lugar y periodo de recolección del material vegetal que influyen de manera significativa en la composición química y el rendimiento de los aceites volátiles obtenidos entre las diferentes especies (27).

El estudio de la actividad del aceite volátil puro de *Hedyosmum* sp., frente a cuatro especies de *Candida*, determinó la inhibición de crecimiento en tres de las cuatro especies estudiadas. Observando que *C. tropicalis* mostró un halo de inhibición de 15 mm seguido por el complejo *C. parapsilosis*, y *C. albicans* con halos de inhibición de 13 mm y 10 mm respectivamente. Mientras que, *C. glabrata* no presentó halo de inhibición frente a aceite puro de *Hedyosmum* sp., y tampoco a ninguna de las concentraciones estudiadas del mismo. Mientras que en el control positivo (Fluconazol) presentó un halo de inhibición de 8 mm. Estos resultados sugieren que *C. glabrata* es una especie de difícil manejo clínico, debido a sus características genéticas en relación a los antifúngicos azólicos especialmente a fluconazol, además de presentar resistencia secundaria cuando es expuesta en forma continua a fluconazol (12,16).

El 75% de las especies de *Candida* evaluadas presentaron halos de inhibición frente al aceite volátil de *Hedyosmum* sp., pero al comprar estos halos con los del control positivo (fluconazol de 25 ug) todos los casos resultaron ser de menor tamaño y por tanto menor actividad antifúngica. No obstante, en este caso se debe considerar la pureza y concentración del principio activo antifúngico del Fluconazol producto de su origen comercial farmacéutico con respecto a un producto natural con características químicas y biológicas aún en estudio como lo es el aceite volátil de *Hedyosmum* sp.

Al analizar los resultados del estudio sobre actividad antifúngica a diferentes concentraciones del aceite volátil, se observó que los halos de inhibición para *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, aumentan de tamaños con poca significancia a medida que se disminuye concentración de aceite volátil, obteniéndose halos de inhibición máximos para *C. albicans* y *C. tropicalis* a concentraciones de  $1 \times 10^6$   $\mu\text{g/mL}$  y para *C. parapsilosis* a concentraciones de  $0,5 \times 10^6$   $\mu\text{g/mL}$ . El aumento de los halos de inhibición observados en tres especies de *Candida* frente a diferentes concentraciones evaluadas del aceite volátil, menores a la del aceite puro, se atribuye posiblemente a problemas de difusión del aceite puro (concentrado y de mayor densidad) en el medio utilizado; mientras que con el aceite diluido a diferentes concentraciones se alcanza una mayor difusión

del principio activo en el medio, permitiendo aumentar el halo de inhibición de las cepas evaluadas. Sin embargo, a concentraciones menores  $0,25 \times 10^6$   $\mu\text{g/mL}$  no hubo halos de inhibición, por lo que se pudiera deducir que, a concentraciones menores de  $0,25 \times 10^6$   $\mu\text{g/mL}$  los aceites volátiles de *Hedyosmum* sp., no ejercen ningún efecto antifúngico en estas cepas.

Otra posible explicación sobre los halos de inhibición obtenidos con el aceite puro, respecto a los alcanzados con el aceite diluido a diferentes concentraciones, es que podría deberse a posibles antagonismos entre los compuestos mayoritarios y él o los compuestos específicos con actividad antifúngica presentes en el aceite volátil de *Hedyosmum* sp. Por lo que al diluir el aceite disminuye el posible efecto antagónico entre los componentes del aceite aumentando la actividad de los principios activos antifúngicos presentes en el aceite volátil. Actualmente estamos frente a un cambio constante y continuo del panorama epidemiológico de los cambios en la susceptibilidad de las levaduras del género *Candida* a los antifúngicos, relacionado con el tipo de huésped, la etiología de la enfermedad, el microorganismo involucrado y sus mecanismos de resistencia (17), haciéndose necesario la investigación de principios activos que sirvan de alternativa para el tratamiento de estas micosis.

A nivel mundial se realizan estudios en búsqueda de alternativas farmacológicas y en especial en América Latina debido a la diversidad de su flora. Entre los trabajos consultados en destacan, el estudio de la actividad del aceite volátil de *Eugenia caryophyllata* contra las cepas de *C. tropicalis* de aislados clínicos, utilizando el método de difusión en disco que mostró CMI de (512  $\mu\text{g/mL}$ ) y halos de inhibición máximos de 54 mm; así como una CMI de 2  $\mu\text{g/mL}$  frente a la anfotericina B (23). Por otra parte, el estudio de aceite volátil de *Eucalyptus globulus* frente a *C. albicans*, mediante el método de difusión en agar mostró que se registraron CMI de ( $2,5 \times 10^4$   $\mu\text{g/mL}$ ) con halos de inhibición de 12 mm (28); mientras que, el estudio realizado por Mota, et al., a partir de aceite puro (sin dilución) de *Eucalyptus globulus* mostró halos de inhibición de 50 mm iguales a la Chlorhexidina 0,5% (50 mm) utilizada como control (29).

En otro estudio realizado a partir de extractos metanólicos de *Moringa oleifera* Lam determinaron que el extracto de concentración al 100% mostró mayor efectividad antifúngica frente a *Candida albicans* (valor medio 10 mm de halo de inhibición) en relación a las demás concentraciones de extractos evaluadas (25% y 50%). La concentración del extracto con mínima inhibición frente a la cepa *Candida albicans* fue al 25%, con una media de 5 mm de diámetro de halo de inhibición. Al comparar los halos de inhibición del extracto al 100% (10 mm) con los halos de inhibición de la Nistatina de 100.000 unidades (11 mm); concluyeron que el extracto al 100% de la *Moringa oleifera* tiene una efectividad antifúngica del 82,5% respecto a la actividad antifúngica máxima (100%) establecida a la Nistatina utilizada como control positivo (30).

Al establecer comparaciones de los resultados de la CMI y los valores de los halos de inhibición obtenidos para cada especie de *Candida* frente al aceite volátil de *Hedyosmum* sp., con los resultados de estudios previos, podemos establecer que los niveles de actividad antifúngica obtenidos para el aceite volátil de *Hedyosmum* sp., son inferiores a los descritos en mayoría de los trabajos antes mencionados, excepto con el estudio del aceite volátil de *Moringa oleifera* Lam (29); debido posiblemente a que existen diferencias en el origen (géneros, especies) de los aceites volátiles comparados, así como también diferencias metodológicas y experimentales.

Los resultados obtenidos en este estudio permiten establecer que el aceite volátil de *Hedyosmum* sp., mostró actividad antifúngica frente a tres de las cuatro especies de *Candida* estudiadas y asociadas a diversos procesos infecciosos de importancia clínica. No obstante, el análisis comparativo de los resultados en los parámetros estudiados con el aceite y los obtenidos con los antifúngicos controles nos indica que el aceite volátil de *Hedyosmum* sp., presenta actividad antifúngica poco significativa bajo las condiciones metodológicas establecidas en este estudio.

### Conflicto de Relaciones y Actividades

Los autores declaran no presentar conflictos de relaciones y actividades.

### Financiamiento

Este trabajo es un producto derivado del Proyecto de Investigación aprobado y financiado por la Dirección de Investigación del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud bajo el Código FCS-013-2018.

### Referencias Bibliográficas

- Zuluaga G. Plantas medicinales en el mundo moderno. [Internet]. 2017. [Disponible en]: <https://wanamey.org/plantas-medicinales/plantas-medicinales-mundo.htm>
- Ramírez L, Castañeda AC, Vargas AM. Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. NOVA [Internet]. 30 de junio de 2013;11(19). Disponible en: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/224> DOI: [10.22490/24629448.1018](https://doi.org/10.22490/24629448.1018) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2013. 15-21 p. Disponible en: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098\\_spa.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf?sequence=1)
- del Castillo Pereira A, Molineros Moscarella P, Campo Urbina M, Bettin Martínez A. Actividad antibacteriana del extracto total de hojas de *Cucurbita moschata* Duchesne (Ahuyama). Rev Cuba Plantas Med [Internet]. 2017;22(1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962017000100009&script=sci\\_arttext&lng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962017000100009&script=sci_arttext&lng=en) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
- D'Armas H, Montesinos K, Jaramillo Jaramillo C, León R. Composición química de aceites esenciales de las hojas de ocho plantas medicinales cultivadas en Ecuador. Rev Cuba Plantas Med [Internet]. 2017;22(2). Disponible en: <http://revplantasmedicinas.sld.cu/index.php/pla/article/view/428/282> [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
- Todzia CA. *Chloranthaceae: Hedyosmum*. Fl. Neotrop Monogr [Internet]. 1988;48:123. Disponible en: <http://legacy.tropicos.org/Name/7300107?langid=66>
- Todzia CA. *Chloranthaceae*. Flora Mesoamericana. [Internet]. 2010;2(1):3-14. Disponible en: <http://www.tropicos.org/docs/meso/chloranthaceae.pdf>
- León-Yáñez S, Valencia N, Pitmam L, Endara C, Ulloa U, Navarrete H. Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador [Internet]. Quito: Publicaciones del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 2019. Disponible en: <https://bioweb.bio/floraweb/librorojo>
- Gupta MP. Medicinal plants originating in the andean high plateau and central valleys region of Bolivia, Ecuador and Peru [Internet]. 2006. Disponible en: <https://repositorio.promperu.gob.pe/handle/123456789/1455>
- Organización Mundial de la Salud. Enfermedades infecciosas [Internet]. 2019. Disponible en: [https://www.who.int/topics/infectious\\_diseases/es/](https://www.who.int/topics/infectious_diseases/es/)
- Organización Mundial de la Salud. ¿Qué es la resistencia a los antimicrobianos? [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.who.int/features/qa/75/es/>
- Gómez Quintero CH. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. Infectio [Internet]. 2010;14(Supp 2):172-80. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S012393921070134X> DOI: [10.1016/S0123-9392\(10\)70134-X](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70134-X) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
- Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. N Engl J Med [Internet]. 7 de octubre de 2015;373(15):1445-56. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1315399> DOI: [10.1056/NEJMra1315399](https://doi.org/10.1056/NEJMra1315399) PMID [26444731](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26444731/) [Google Académico](#)
- Antinori S, Milazzo L, Sollima S, Galli M, Corbellino M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: A narrative review. Eur J Intern Med [Internet]. 1 de octubre de 2016;34:21-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.06.029> DOI: [10.1016/j.ejim.2016.06.029](https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.06.029) PMID [27394927](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27394927/) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
- McCarty TP, Pappas PG. Invasive Candidiasis. Infect Dis Clin North Am [Internet]. 2016;30(1):103-24. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891552015001142> DOI: [10.1016/j.idc.2015.10.013](https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.013) PMID [26739610](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26739610/) [Google Académico](#)
- Zurita Macalupú S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 23 de marzo de 2018;35(1):126-31. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3563> DOI: [10.17843/rpmesp.2018.351.3563](https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3563) PMID [29924258](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29924258/) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
- Quiñones Pérez D. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque «Una salud». Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2017;69(3):1-17. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602017000300009&script=sci\\_arttext&lng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602017000300009&script=sci_arttext&lng=pt) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#) [Scielo](#)

18. Veletanga J. Estiman que el 3% de la población ecuatoriana podría tener enfermedades micóticas [Internet]. 09 de marzo. 2017. Disponible en: <https://www.edicionmedica.ec/secciones/salud-publica/estiman-que-el-3-de-la-poblacion-podra-tener-enfermedades-micoticas-89771>
19. Torres Rodríguez SH, Tovar Torres MC, García VJ, Lucena ME, Araujo Baptista L. Composición química del aceite esencial de las hojas de *Hedyosmum luteyningii* Todzia (Chloranthaceae). Rev Peru Biol [Internet]. 2018;25(2):173-8. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332018000200012&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332018000200012&script=sci_arttext) DOI: [10.15381/rpb.v25i2.14289](https://doi.org/10.15381/rpb.v25i2.14289) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
20. Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato. Farmacopea ufficiale della Repubblica Italiana. 11th ed. Roma-Italy. 2002.
21. Palá Paúl J. Contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género «Eryngium» L en la Península Ibérica [Internet]. [Doctor en Biología]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones; 2004. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/4593/>
22. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts. 3rd ed. CLSI guideline M44-A2. [Internet]. 2018.
23. Moura Mendes J, Sarmento Guerra FQ, de Oliveira Pereira F, Pereira de Sousa J, Nogueira Trajano V, de Oliveira Lima E. Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Candida tropicalis* de aislados clínicos. Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat [Internet]. 2012;11(3):208-17. Disponible en: [www.blacpma.usach.cl](http://www.blacpma.usach.cl) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
24. Alviano DS, Alviano CS. Plant Extracts: Search for New Alternatives to Treat Microbial Diseases. Curr Pharm Biotechnol [Internet]. 2009;10(1):106-21. Disponible en: <http://www.eurekaselect.com/node/68419/article> DOI: [10.2174/138920109787048607](https://doi.org/10.2174/138920109787048607) PMID [19149593](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19149593/) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
25. Collaguazo Enriquez EG. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Hedyosmum* sp. del bosque natural Jacarón [Internet]. [Licenciada en Laboratorio Clínico e Histopatológico]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud.; 2019. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5533>
26. Zamora-Burbano AM, Arturo-Perdomo DE. Composición química del aceite esencial de hojas *Hedyosmum translucidum* Cuatrec., *Chloranthaceae* (Granizo). Boletín Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromáticas [Internet]. 3 de mayo de 2016;15(3):192-8. Disponible en: [https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo\\_7\\_-\\_1030\\_-\\_192\\_-\\_198\\_0.pdf](https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_7_-_1030_-_192_-_198_0.pdf) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
27. Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour Fragr J [Internet]. 1 de julio de 2008;23(4):213-26. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ffj.1875> DOI: [10.1002/ffj.1875](https://doi.org/10.1002/ffj.1875) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
28. Echeverría Erazo AE. Actividad anti fúngica "in vitro" de aceite esencial y extracto alcohólico de eucalipto "*Eucalyptus globulus*" sobre *Candida albicans* cepa ATCC 10231 [Internet]. [Odontólogo]: Riobamba, Universidad Nacional de Chimborazo; 2017. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/4454?mode=full>
29. Mota V de S, Turrini RNT, Poveda V de B. Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oil, xylitol and papain: a pilot study. Rev da Esc Enferm da USP [Internet]. 2015;49(2):216-20. Disponible en: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0080-62342015000200216&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0080-62342015000200216&script=sci_arttext) DOI: [10.1590/S0080-62342015000200005](https://doi.org/10.1590/S0080-62342015000200005) [Google Académico](#) [Microsoft Académico](#)
30. Guzmán Cifuentes MA. Efecto anti fúngico del aceite esencial de Moringa oleífera Lam al 25, 50, 100 % frente a la *Candida albicans* estudio in vitro [Internet]. [Odontóloga]: Quito: UCE; 2018. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15855>

**Autores:**

**Correspondencia:** Lucena María E. <https://orcid.org/0000-0001-9120-345X>. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera Laboratorio Clínico. Grupo de Investigación "Análisis de Muestras Biológicas y Forenses". Riobamba-Chimborazo, Ecuador. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ingeniería. Grupo de Investigación Clean Energy and Environment. Riobamba-Chimborazo, Ecuador. Dirección Postal: Facultad de Ciencias de la Salud. Av. Antonio José de Sucre. Campus Edison Riera. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba-Chimborazo, Ecuador. Teléfono: +593962300509. E-mail: [mlucena@unach.edu.ec](mailto:mlucena@unach.edu.ec)

Latorre N Katty. <https://orcid.org/0000-0001-5128-7396>. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Riobamba-Chimborazo, Ecuador. E-mail: [kattylatorre1@hotmail.com](mailto:kattylatorre1@hotmail.com)

Ustáriz Francisco J. <https://orcid.org/0000-0002-6423-9067>. Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Escuela de Bioanálisis. Grupo de Investigación de Análisis Instrumental. Mérida-Mérida, Venezuela. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera de Medicina. Riobamba-Chimborazo, Ecuador. E-mail: [francisco.ustariz@unach.edu.ec](mailto:francisco.ustariz@unach.edu.ec)

García Víctor. <https://orcid.org/0000-0003-0557-5957>. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ingeniería. Grupo de Investigación Clean Energy and Environment. Riobamba-Chimborazo, Ecuador. E-mail: [vgarcia@unach.edu.ec](mailto:vgarcia@unach.edu.ec)

Rojas Fermín Luis. <https://orcid.org/0000-0003-4508-1927>. Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Instituto de Investigaciones. Sección Productos Naturales. Mérida-Mérida, Venezuela. E-mail: [rojasfermin33@gmail.com](mailto:rojasfermin33@gmail.com)

Monge M Adriana. <https://orcid.org/0000-0002-9988-0348>. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera Laboratorio Clínico. Grupo de Investigación "Análisis de Muestras Biológicas y Forenses". Riobamba-Chimborazo, Ecuador. E-mail: [amonge@unach.edu.ec](mailto:amonge@unach.edu.ec)

Cáceres M Verónica. <https://orcid.org/0000-0001-9560-9625>. Universidad Nacional de Chimborazo. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera Laboratorio Clínico. Grupo de Investigación "Análisis de Muestras Biológicas y Forenses". Riobamba-Chimborazo, Ecuador. E-mail: [vcaceres@unach.edu.ec](mailto:vcaceres@unach.edu.ec)

**Contribución de los Autores:**

**LME:** conceptualización, metodología, validación, análisis formal, investigación, recursos, redacción-preparación del borrador original, redacción-revisión y edición, supervisión, planificación y ejecución, administración de proyectos y adquisición de fondos. **LNK:** metodología, investigación, validación, análisis formal. **UFJ:** metodología, análisis formal, investigación, redacción-preparación del borrador original, redacción-revisión y edición. **GV:** metodología, investigación, redacción-revisión y edición. **RFL:** metodología, redacción-revisión y edición. **MMA y CMV:** análisis formal, curación de datos.