

MONITORAGGIO MICROBIOLOGICO DELL'ARIA IN AMBIENTE CONFINATO DOPO DIFFUSIONE DI SOSTANZE A BASE DI TERPENI

E. Garrou* - G. Serafini - A. Mangiavillano* - M. Bevilacqua*** - C.A. Zaccagna******

**L.S.P. Sezione Biotossicologica U.S.L. 5 di Grugliasco (Torino)*

***Serv. di Igiene e Sicurezza del Lavoro U.S.L. 5 Collegno (Torino)*

****Serv. Fisiopatologia Respiratoria, Ospedale - Università di Padova*

*****Serv. Medicina di Base U.S.L. 5 Villarbasse (Torino)*

MONITORAGGIO MICROBIOLOGICO DELL'ARIA IN AMBIENTE CONFINATO DOPO DIFFUSIONE DI SOSTANZE A BASE DI TERPENI

E Garrou* - G Serafini** - A. Mangiavillano* - M. Bevilacqua*** - C.A. Zaccagna****

*L.S.P. Sezione Biotossicologica U.S.L. 5 di Grugliasco (Torino)

**Serv. di Igiene e Sicurezza del Lavoro U.S.L. 5 Collegno (Torino)

***Serv. Fisiopatologia Respiratoria, Ospedale - Università di Padova

****Serv. Medicina di Base U.S.L. 5 Villarbasse (Torino)

INTRODUZIONE

La Demoskopea (Simposio a Villa d'Este di Cernobbio), ha messo in evidenza che la maggior preoccupazione degli italiani è la qualità dell'aria che respiriamo: è un problema sentito, più fortemente nelle città medio-grandi, dal 92% delle persone dai 14 ai 79 anni interrogate in 160 comuni d'Italia.

Tutto ciò è giustificato in quanto un individuo su 4 assume farmaci per curare la bronchite. Ci siamo interessati quindi allo studio, da un punto di vista microbiologico, della qualità dell'aria in uno spazio confinato (aula di una scuola) e al possibile abbattimento della carica microbica con l'uso di sostanze naturali.

Le sostanze naturali usate sono l'incenso e la propoli. La propoli è un insieme di sostanze resinose, gommose e balsamiche, raccolte dalle api sulle gemme e sulla corteccia di molte piante per rinforzare i favi, rivestire le pareti di ingresso e chiudere le fessure dell'alveare.

Assieme ad esse sono presenti sostanze secrete con il metabolismo delle api e materiali introdotti durante la elaborazione della propoli, come la cera e il polline. È una sostanza ceroide-resinosa con potere antibiotico e di preservazione dei prodotti interni dell'albero.

La sua composizione chimica è stata studiata fin dagli anni '70 da Popravcko, Disalberti (1979) ha identificato nuovi componenti di natura flavonica. Donadieu (1991) ha riportato la seguente composizione:

resine e balsami	50-55%
cera	25-35%
olio essenziale	10%
materie non identificabili	5%
sostanze varie	5%

Nel 1987 Belliardo suddivideva i componenti della propoli in tre principali gruppi di sostanze così suddivisi:

gruppo I: comprende varie classi di composti dotati di carattere aromatico e, spesso, fenolico tra cui i flavonoidi, gli idrossiacidi aromatici, loro esteri, alcool ed aldeide aromatiche (acido benzoico, acido cinnamico e i loro derivati, l'acido ferulico, salicilico, caffeico), e le cumarine;

gruppo II: terpeni e olio essenziale; lo studio mediante spettrometria di massa ha reso possibile l'identificazione di 25 composti, la maggioranza dei quali di natura sesquiterpenica;

gruppo III: componenti vari tra cui sono stati identificati acidi grassi e steroli, aminoacidi, lattoni, polisaccaridi, piccole quantità di vitamine e tra gli oligoelementi il rame e il manganese.

L'incenso è una gomme-resina che scola da fessurazioni della corteccia di diverse specie di piante presenti nelle aree comprese fra equatore e tropici, in particolare India, Somalia, Eritrea, Arabia Saudita. Si tratta prevalentemente di piante della famiglia delle *Burseraceae*, della specie *Boswellia*. Gli indigeni raccolgono materiale praticando incisioni nella corteccia. Ne fuoriesce un'emulsione bianca che forma poi lacrime o gocce giallastre che scolando lungo il tronco forma stalattiti.

Vi è una grande varietà nella composizione dell'incenso a seconda delle specie delle piante che lo producono con conseguenze sulle proprietà terapeutiche dello stesso.

L'incenso della Guinea Bissau si differenzia nettamente dagli altri incensi sia per il genere di piante che lo producono (genere *Dacryoides*), sia per la composizione chimica, vale a dire per la particolare ricchezza in esso di terpeni biciclici e sesquiterpeni e, viceversa, per l'assenza di monoterpeni (motivo per cui questo incenso è poco profumato) e di triterpeni; secondo la nostra esperienza i biterpeni e i sesquiterpeni dell'incenso della Guinea Bissau svolgono oltre all'azione antiinfiammatoria anche una notevole azione antimicrobica, non segnalata per i triterpeni degli incensi delle piante del genere *Boswellia*.

Le attività farmacologiche riconosciute della propoli sono molteplici: in questa sede ci occupiamo di quella antibatterica, antivirale, antifungina, antiparassitaria.

Attività antibatterica.

I primi studi sistematici sull'attività antibatterica della propoli sono stati condotti da Kivalkina (citato da Ghisalberti, 1979); questo ricercatore osservò che i campioni di propoli fusa presentavano attività batteriostatica su colture di *Staphylococcus aureus* nonché su altri batteri; infatti anche Lindenfelser (citato da Ghisalberti, 1979) in un dettagliato studio sull'attività antibatterica ha visto che gli estratti di campioni di propoli esaminati presentavano una elevata azione inibitrice su 25 delle 39 specie batteriche considerate. Numerosi

altri autori hanno messo in evidenza l'attività antibatterica in vitro della propoli in particolare su bacilli gram negativi: *Proteus vulgaris* (Lavie P., 1992), *Escherichia coli* (Fuentes et al., 1990), *Pseudomonas aeruginosa* (Fuentes et al., 1990; Lavie P., 1992). Grange e Davey riferiscono che gli estratti etanolici di propoli (EEP), nella dose di 3 mg/ml, inibiscono completamente la crescita di *Pseudomonas aeruginosa* e di *Escherichia coli*, ma non hanno effetti sulla *Klebsiella pneumoniae* (Marcucci MC., 1995). Notevole è inoltre l'attività antibatterica su cocchi gram positivi: *Staphylococcus aureus* (Puentes et al., 1990; Detoma P., 1991; Lavie P., 1992) e su *Streptococchi* (Gonzales A. et al., 1988/1989) isolati in ambiente ospedaliero e sullo *Streptococco emolitico* (Marcucci MC., 1995); inoltre su bacilli acido resistenti quali il *Mycobacterium fortuitum* e il *Mycobacterium tuberculosis* (Lavie P., 1992).

Le sostanze ad attività batteriostatica dei costituenti riscontrabili negli estratti di propoli sono la pinocembrina, la pinobanksina-3-acetato, il benzil estere dell'acido pitarattocumarico e gli esteri dell'acido caffeico. La presenza di acido ferulico e di terpeni determina un'attività sui gram + e gram sui meccanismi mediante i quali si esplica l'antibiosi non è stato trovato nulla in letteratura salvo un'interferenza con la sintesi delle proteine riferita ai polifenoli (Paronetto, 1977). L'attività antibatterica della propoli è attribuita agli acidi ed esteri aromatici con prevalente azione battericida (Meresta L., 1984; Debuyser E., 1983) e ai flavonoidi con prevalente azione batteriostatica (Villanueva R.V., 1988). Si pensa che agiscano aumentando la resistenza alle infezioni, vale a dire come adiuvanti immunologici, attraverso un meccanismo di attivazione macrofagica così come è stato ipotizzato nelle infezioni sperimentali da gram negativi patogeni (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa*) (Dimov V., 1992).

Attività antifungina.

Su 20 delle 39 specie fungine saggiate da Ghisalberti, 1979, di particolare interesse è apparsa l'azione inibitrice su *Trichophyton rubrum*. Importante attività antifungina della propoli è anche su altri funghi quali *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton verrucosum* e su specie di *Candida* (Detoma P., Ozino O., 1991; Dobrowolski J.W., 1991; Cizmarik J., 1975; Fernandez Jr. A., 1994).

Attività antiparassitaria.

Preparazioni di propoli sono state classificate buone coccidiostatiche contro *Chilomonas paramecium* e ameba (Lavie P., 1960).

Note sono anche le proprietà antivirali (König et al., 1983). In vitro sono stati studiati gli effetti della propoli su numerosi virus a DNA e RNA, inclusi il virus dell'Herpes simplex

RISULTATI 1° INDAGINE SENZA DIFFUSIONE DI PROPOLI

1° settimana

Tabella 1

ARIA LATO LAVAGNA UFC/MC	Terreni	Mercoledì mattina	Mercoledì oomeri!!	Giovedì mattina	Giovedì oomeri2.	Venerdì mattina	Venerdì oomeri2.
	PCA	94	255	72	44	183	305
B.P.	Ass.	5	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	5	12	4	58	7	20	
L	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	

ARIA LATO LIBRERIA UFC/MC	Terreni	Mercoledì mattina	Mercoledì oomeri2.	Giovedì mattina	Giovedì oomeri2.	Venerdì mattina	Venerdì oomeri1:
	PCA	150	167	322	172	177	177
B.P.	Ass.	5	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	6	29	8	50	12	23	
L	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	

SUPERF. BANCO UFC/24cm2	Terreni	Mercoledì mattina	Mercoledì oomeri2.	Giovedì mattina	Giovedì oomeri2.	Venerdì mattina	Venerdì oomere.
	PCA	27	6	20	7	26	17
B.P.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	5	1	6	6	6	3	
L	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
LEV	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	3	4	

SUPERF. CATTEDRA UFC/24cm2	Terreni	Mercoledì mattina	Mercoledì oomeri2.	Giovedì mattina	Giovedì pomeri2.	Venerdì mattina	Venerdì pomer2.
	PCA	2	10	48	16	7	15
B.P.	Ass.	Ass.	1	Ass.	1	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	1	3	15	6	3	1	
L	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	1	1	
LEV	Ass.	1	Ass.	Ass.	Ass.	2	

SUPERF. DAVANZ. UFC/24cm2	Terreni	Mercoledì mattina	Mercoledì oomeri2.	Giovedì mattina	Giovedì pomeri2.	Venerdì mattina	Venerdì pomer2.
	PCA	5	16	13	29	12	60
B.P.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	1	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	17	1	11	8	13	6	
L	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	3	1	
LEV	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	3	1	

(HSV) tipo 1, Herpes simplex tipo 2, Adenovirus tipo 2, Virus stomatite vescicolare NSV) e il Polio virus tipo 2 (Serkedjeva J. et al., 1992). Sono gli acidi aromatici a possedere in vitro maggiore attività antivirale (Amoros M., 1992).

Per quanto riguarda l'incenso, fin dai tempi più antichi ha trovato impiego per alleviare infiammazioni della gola e dei bronchi (Proserpio-Martelli, 1971). Recentemente è stato oggetto di studi che hanno confermato le sue ottime proprietà antinfiammatorie (Dowiejua M., et al., 1993; Ammon HPT, 1993). Esso svolge anche una certa azione antimicrobica (Meresta L., 1984) e probabilmente anche antitumorale (Ger LP et al., 1992).

Gli estratti etanolici della resina di *Boswellia* hanno dimostrato la presenza di acidi triterpenici, tetraciclici e pentaciclici, i cui capostipiti sono l'acido boswellico e l' α -amirina. L'acido boswellico riduce attivamente l'attività degli enzimi lisosomiali, quali la p-glucuronidasi, che sono riconosciuti mediatori nei processi infiammatori, come nell'artrite reumatoide sperimentale (Kesava Reddy G. et al., 1987). Più specificatamente, gli isomeri α e β degli acidi boswellici, l'11-keto-acido boswellico e i loro derivati acetilati, riducono la formazione di leucotriene B₄ dall'acido arachidonico endogeno nei neutrofilii peritoneali di ratto, attraverso un'inibizione specifica della 5-lipoossigenasi (Safayhi H. et al., 1992; Kweifio-Okai G., 1992). L'incenso rappre-

senterebbe così il primo farmaco antileucotrienico privo di effetti collaterali attualmente disponibile (Ammon HPT, 1993).

L'incenso e la propoli, usati come prodotto in toto, sono più attivi dei loro singoli componenti. Infatti è stato dimostrato che vi è sinergismo fra i flavonoidi (Amoros M. *et al.*, 1992); flavonoidi acidi ed esteri aromatici (Serkedjieva J. *et al.*, 1992; Amoros M. *et al.*, 1992); flavonoidi, esteri dell'acido caffeico e composti fenolici (Bankova V. *et al.*, 1988; Guarini L. *et al.*, 1992); fra flavonoidi. idrosiacidi aromatici e sesquiterpeni (Kedzia B. *et al.*, 1985; Krol W., 1990; Sheller S. *et al.*, 1977).

SCOPO DEL LAVORO

Data l'enorme bibliografia esistente sull'attività svolta, da incenso e propoli ed in particolare sulle proprietà antiinfiammatorie, antibatteriche, antivirali, antifungine e antitumorali, gli autori hanno inteso verificare se questa associazione libera nell'ambiente sostanze volatili in grado di abbassare la carica microbica dell'aria in ambiente confinato, aprendo così un nuovo capitolo di studi.

MATERIALE E METODI

Lo studio di cui all'oggetto è stato compiuto presso una Scuola Media situata in un paese della provincia di Torino; il campionamento dell'aria (mediante flussimetro Surface Air System) ha avuto luogo sempre sulla stessa aula ma in tre periodi successivi che vengono di seguito riportati e di cui si descrive il metodo operativo.

Il primo campionamento è relativo al periodo dall'1/3/95 all'8/3/95 ed è stato eseguito in assenza di diffusione di propoli, per fornire informazioni sulla qualità dell'aria dell'aula in condizioni standard e servire quindi da confronto per i risultati dei prelievi successivi. I terreni usati sono stati il Plate Count Agar (Biogenetics) per la ricerca dei mesofili; il terreno di Baird Parker (Biolife) per la ricerca dello *Staphylococcus aureus*; il terreno Cetrimide (Difco) per la ricerca dello *Pseudomonas aeruginosa*; il terreno Sabouraud e Cloramfenicolo (Bio-Merieux) per la ricerca di muffe e lieviti e il terreno di Levine (Difco) per la ricerca di Coliformi totali e fecali.

Durante tale indagine sono stati anche eseguiti controlli su alcune superfici (cattedra, banchi scolastici, davanzali) e il prelevamento ha avuto luogo in orari diversi della stessa giornata (alle ore 7.30 del mattino e al pomeriggio alle ore 16.30), con piastre da contatto, da 24 cm² di diametro, utilizzando gli stessi terreni colturali usati per il campionamento dell'aria.

La seconda indagine è stata condotta per tre giorni consecutivi (10-11-12 aprile 1995)

RISULTATI 1° INDAGINE SENZA DIFFUSIONE DI PROPOLI

n° settimana

Tabella 1

ARIA LATO LAVAGNA UFC/MC	Terreni	Lunedì mattina	Lunedì pomeriggio!!	Martedì mattina	Martedì pomeriggio!!	Mercoledì mattina	Mercoledì pomeriggio.
	PCA	111	55	17	172	200	200
B.P.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	24	17	13	Ili.	24	Ili.	
L	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	2	Ili.	

ARIA LATO LIBRERIA UFC/MC	Terreni	Lunedì mattina	Lunedì pomeriggio.	Martedì mattina	Martedì pomeriggio<	Mercoledì mattina	Mercoledì DOMCIL
	PCA	28	28	44	83	128	155
B.P.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	26	18	8	36	18	Ili.	
L	2	Ass.	Ass.	Ass.	2	Ili.	

SUPERF. BANCO UFC/24cm2	Terreni	Lunedì mattina	Lunedì pomeriggio!!	Martedì mattina	Martedì pomeriggio2.	Mercoledì mattina	Mercoledì pomeriggio.
	PCA	5	300	58	14	60	6
B.P.	Ass.	Ass.	6	Ass.	2	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	19	1	DI.	Ass.	Ili.	6	
L	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	DI.	Ass.	
LEV	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	

SUPERF. CATTEDRA UFC/24 cm2	Terreni	Lunedì mattina	Lunedì pomeriggio<	Martedì mattina	Martedì pomeriggio!	Mercoledì mattina	Mercoledì pomeriggio.
	PCA	15	21	22	3	52	20
B.P.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	10	1	6	6	55	13	
L	Ass.	Ass.	1	Ass.	Ass.	Ass.	
LEV	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	

SUPERF. DAVANZ. UFC/24cm2	Terreni	Lunedì mattina	Lunedì pomeriggio!!	Martedì mattina	Martedì pomeriggio2.	Mercoledì mattina	Mercoledì pomeriggio.
	PCA	Ili.	25	10	6	50	DI.
B.P.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
Cetrimide	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	
S.+C. M	19	11	15	16	41	14	
L	Ass.	1	1	1	Ass.	2	
LEV	Ass.	Ass.	Ass.	Ass.	1	Ass.	

in presenza di un diffusore di propoli e incenso. La diffusione per sanificare gli ambienti con tali sostanze avviene attraverso un apparecchio contenente un fornello e una capsula cilindrica, riempita dalle due sostanze. All'accensione la propoli e l'incenso sono sottoposti a un riscaldamento rapido che porta la temperatura dapprima a 62 °C (punto di fusione della frazione cerosa) e successivamente a 85 °C (temperatura massima ottimale per la liberazione dei componenti, senza provocarne l'alterazione).

La propoli che è stata utilizzata viene coltivata circa a 1000mt. s.l.m., in Piemonte, dove le api raccolgono quasi esclusivamente sulle gemme di pioppo. Il contenuto in metalli nella propoli grezza è risultato molto basso, libera da pesticidi e sostanze nocive.

L'incenso utilizzato proviene da una zona dell'Africa centro occidentale, raccolto da piante delle specie *Klaineana*, genere *Dacryoides*, famiglia *Burseraceae*.

Dopo l'attivazione per otto ore dell'apparecchio si è provveduto ad effettuare dei campionamenti di aria e campionamenti sulle superfici negli stessi punti considerati dallo studio precedente; ma prevedendo soltanto la ricerca della carica microbica totale in quanto non si erano evidenziati patogeni nella prima indagine.

I campionamenti sono stati eseguiti al mattino per verificare l'eventuale capacità disinfettante delle sostanze sopra menzionate, dopo la diffusione delle stesse durante le ore notturne, mediante apposita strumentazione (apparecchio diffusore di propoli).

Le indagini chimiche effettuate sui campioni di sostanze resinose naturali denominate incenso Nuova Guinea e incenso Somalia hanno seguito il seguente corso:

- il metodo di preparazione dei campioni, dopo una serie di prove su aliquote dei campioni trattate con diversi solventi, è stato il seguente:

- estrazione a freddo di 1,0 g di campione in 20 ml di toluene, trattamento in bagno ad ultrasuoni per 15', successiva filtrazione per la separazione del residuo.

Il metodo di analisi strumentale è la gascromatografia-spettrometria di massa in scansione con le seguenti condizioni:

- sistema di iniezione split/splitless, colonna capillare dB5 60mx0,25 mmld, sorgente ad impatto elettronico, analizzatore quadrupolare, scansione 30-450 u.m.a. -analisi qualitativa per confronto cori libreria di spettri Wiley (software HP).

L'esame chimico dell'incenso ha dato i seguenti risultati:

Incenso della Nuova Guinea:
 terpeni biciclici e sesquiterpeni 51,8%
 Alcoli terpenici ciclici 18%
 Chetoni terpenici 0,5%
 Altri terpeni ossigenati 5,8%
 Composti non identificati 23,9%

Incenso Somalo:
 Monoterpenici ciclici 27%
 Terpeni biciclici e sesquiterpeni 7,4%
 Alcoli terpenogeni 0,3%
 Alcoli terpenici ciclici 7,9%
 Chetoni terpenici 5,4%
 Altri terpeni ossigenati 10,6%
 Composti non identificati 40,5%

Per questo motivo è stato utilizzato l'incenso della Nuova Guinea in quanto molto più ricco in sesquiterpeni che come citato precedentemente, svolgono oltre all'azione antiinfiammatoria anche una notevole attività antimicrobica (Amoros M. *et al.*, 1992; Bankova V.S. *et al.*, 1983; Villanova R.V. *et al.*, 1988).

RISULTATI

Dai risultati riportati nelle tabelle sottostanti si evidenzia (con il 1° campionamento) la scarsissima o nulla presenza degli agenti patogeni ricercati (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) e quella modesta di Lieviti e Muffe sia nei campioni relativi alle superfici sia a quelli relativi all'aria.

La carica microbica totale a 36 °C mostra la seguente situazione: su 12 prelevamenti di aria (6 nella zona lavagna e 6 nella zona libreria) solo in quattro casi si osserva un aumento di colonie nelle ore pomeridiane, per tre volte non si ha alcuna variazione e per tre volte si ha invece una diminuzione; infine due campionamenti risultano illeggibili causa zona

RISULTATI II° INDAGINE CON DIFFUSIONE DI PROPOLI

Tabella 2

ARIA	Terreni	Lunedì mattina	Martedì mattina	Mercoledì mattina
LATO LAVAGNA UFC/MC	A)PCA	383	111	89
	B)PCA	122	Confluenti	17

ARIA	Terreni	Lunedì mattina	Martedì mattina	Mercoledì mattina
LATO LIBRERIA UFC/MC	A)PCA	311	239	50
	B)PCA	233	200	50

SUPERF.	Terreni	Lunedì mattina	Martedì mattina	Mercoledì mattina
BANCO UFC/24 cm2	A)PCA	26	21	12
	B)PCA	35	30	11

SUPERF-	Terreni	Lunedì mattina	Martedì mattina	Mercoledì mattina
DAVANZALE UFC/24 cm2	A)PCA	10	25	Confluenti
	B)PCA	7	7	26

SUPERF.	Terreni	Lunedì mattina	Martedì mattina	Mercoledì mattina
CATTEDRA UFC/24 cm2	A)PCA	30	34	12
	B)PCA	33	18	15

RISULTATI ID° INDAGINE CON DIFFUSIONE PROPOLI

Tabella 3

ARIA	Terreni	Martedì 09/05/95	Mercoledì 10/05/95	Giovedì 11/05/95
LATO LAVAGNA UFC/MC	A)PCA	200	44	22
	B)PCA	183	300	139

ARIA	Terreni	Martedì 09/05/95	Mercoledì 10/05/95	Giovedì 11/05/95
LATO LIBRERIA UFC/MC	A)PCA	200	139	67
	B)PCA	178	150	50

di crescita confluyente sul terreno di coltura; l'andamento appare quindi molto discontinuo.

I risultati dell'analisi dell'aria non sono sempre correlate alle variazioni attese nei vari periodi della giornata (minor carica microbica al mattino in assenza della scolaresca, maggior carica microbica al pomeriggio dopo attività svolta per 4-5 ore). Le stesse osservazioni valgono anche per i risultati derivanti dal-

le analisi dei campioni delle varie superfici considerate (vedi tabella 1).

La seconda indagine condotta per tre giorni consecutivi (10/11/12 aprile 1995) in presenza di un diffusore di propoli e di incenso con campionamenti al mattino per verificare le eventuali capacità disinfettanti sopra menzionate, dopo la diffusione delle stesse durante le ore notturne.

Per quanto riguarda i campioni di aria si evi-

denza una discreta carica microbica nel primo giorno (se rapportata ai valori di "normalità" ottenuti nella prima indagine); si nota in seconda giornata un lieve decremento dei valori, anche se la situazione potrebbe essere definita stazionaria, mentre nella terza giornata si osserva una diminuzione della carica microbica totale.

I campionamenti delle superfici mostrano invece un andamento discontinuo con variazioni poco significative (vedi tabella 2).

La terza ed ultima indagine è stata eseguita nei giorni 9/10/11 maggio 1995 ed anche in questo caso si è provveduto nelle ore notturne a diffondere propoli ed incenso. I campionamenti di aria eseguiti presentano una situazione simile a quella verificatasi nel mese precedente: discreta carica microbica il 1° giorno; un leggero decremento il 2° e un buon abbattimento della carica microbica totale in 3° giornata (vedi tabella 3).

CONCLUSIONI

Pur rendendoci conto che lo studio presentato ha caratteri di preliminarità si possono fare alcune considerazioni sull'attività antibatterica dei sesquiterpeni.

Sia nella seconda che nella terza indagine si è avuto un buon decremento della carica microbica nella terza giornata; nella seconda giornata il decremento è stato lieve.

Queste sostanze per agire hanno bisogno di un uso continuato con risultati validi nella sanificazione degli ambienti destinati all'uomo.

Il nostro lavoro è tra i primi che studiano l'attività sanificatrice dei sesquiterpeni nell'aria confinata. Infatti dalla grande bibliografia allegata si evince che la quasi totalità degli studi sono stati condotti in vitro e sull'uomo.

Il poter utilizzare sostanze naturali, senza nessun effetto collaterale, per la sanificazione ambientale è sicuramente di grande utilità.

BIBLIOGRAFIA

- Ammon H.P.T., Mack T., Singh G.B., Safayhi H.-Inhibition of leukotriene 84 formation in rat peritoneal neutrophils by an ethanolic extract of the gum resin exudate of *Boswellia serrata*. *Pianta Med* 57: 203-298, 1991.
- Ammon H.P.T., Safayhi H., Singh G.B.-Verwendung von reiner Boswelliasäure. Europäische Patentanmeldung n° 93100398.2; Patentblatt 93/30; Anmeldetag: 13.1.93.
- Amoros M., Simoes C.M.O., Girre L., Sauvager F., Cormier M.-Synergistic effect of flavonoids and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *J. Nat. Prod.* 55: 1732-40, 1992.
- Amoros M., Lurton E., Boustie J., Girre L., Sauvager F., Cormier M.-Comparison of the anti-herpes simplex virus activity of propolis and 3-methylbut-2-enyl caffeate. *J. Nat. Prod.* 57: 644-647, 1994.
- Bankova V.S., Popov S.S., Marckov N.L.-A study on flavonoids of propolis. *J. Nat. Prod.* 46: 471-474, 1983.
- Bankova V., Popov S., Marckov N.-On the chemical composition of some propolis fraction with antiviral action. *Acta Microbiol. Bulg.* 23: 52-57, 1988.
- Billingham M.E.J., Davies G.E.-"Anti-inflammatory drugs. Experimental models of arthritis in animals as screening tests for drugs to treat arthritis in man" (Ed. Vane J.R., Ferreira S.H.), Berlin, Heidelberg, New York, Springer 1979: 108-144.
- Cizmarik J., Matel I.-Examination of the chemical composition of propolis. I. Isolation and identification of the 3,4-dihydroxycinnamic acid (caffeic acid) from propolis. *Experientia* 26: 713, 1970.
- Cizmarik J., Matel I.-Examination of the chemical composition of propolis. II. Isolation and identification of 4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid (ferulic acid) from propolis. *J. Apic. Res.* 12: 63-65, 1973.
- Cizmarik J., Trupl I.-L'action de la propolis sur les levures. XXV Congrès International d'Apiculture. Grenoble 1975.
- Grane E.-Bees and beekeeping, science, practice and world resources. Cornell University Press 1990: 368-370.
- Debuysse E.-La propolis. Docteur en Pharmacie Thesis, Université de Nantes, France 1983: 82.
- Detoma P., Ozino O.I.-Azione della propoli su microrganismi dell'ambiente ospedaliero. *Ann. Microbiol.* 41: 231, 1991.
- Dirnov V., Ivanovska N., Manolova N., Bankova V., Nikolov N., Popov S.-Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function. *Apidologie* 22: 155-162, 1991.
- Dirnov V., Ivanovska N., Bankova V., Popov S.-Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine* 10: 817-23, 1992.
- Dobrowolski J.W., Vohora S.B., Sharma K., Shah S.A., Naqvi S.A., Dandiya P.C.-Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol.* 35: 77-82, 1991.
- Duwiejua M., Zeitlin I.J., Waterman P.G., Chapman J., Mhango G.J., Provan G.J.-Antiinflammatory activity of resins from some species of the plant family Burseraceae. *Pianta Med.* 59: 12-16, 1993.
- Fabretto L., Gambolò P.-Metodo originale di estrazione dei componenti utili della propoli. *Apicolt. Mod.* 82: 193-197, 1991.
- Fernandez Jr. A., Sugizaki M.F., Fogo M.L., Lopes C.A.M., Funari S.R.C.-In vitro susceptibility of *Candida albicans* to propolis. *Proc. IV Ibero-Latin American Meeting Apic., Ministerio de Agricultura, Ganadería y Recursos Renovables, Rio Cuarto, Argentina* 1994: 209-211.
- Fuentes A.M.O., Hernandez N.R.-Acción antimicrobiana de los extractos alcohólicos de propóleo. *Rev. Cubana Farm.* 24: 34-44, 1990.
- Ganora R.-Flora Medica Etiopica. *Archivio Italiano di Scienze Mediche Coloniali.* Ed. Cappelli Bologna 1903: 3, 1929.
- Ger L.P., Liou S.H., Shen C.Y., Kao S.J., Chen K.T.-Risk factors of lung cancer. *J. Formos. Med. Assoc.* 91 (Suppl. 3P): S222-31, 1992.
- Ghisalberti E.L.-Propolis: a review. *Bee World* 60: 59-84, 1979.
- Gonzales A., Varela F., Hurtado O., Cueto D.J.-Experiencia en angiología. Mem. I Simposio Efectos del Propóleo en la Salud Humana y Animal, Varadero. Cuba 1988/89: 262-263.
- Grange J.M., Devey R.W.-Antibacterial properties of propolis. *J.A. Soc. Med.* 83: 158-160, 1990.
- Guarini L., Su Z.Z., Zucker S., Lin J., Grunberger D., Fisher P.B.-Growth inhibition and modulation of antigenic phenotype in human melanoma and glioblastoma multiforme cells by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Celi. Mol. Biol.* 38: 513-27, 1992.
- Hernandez N.M.R.-Efecto antibiótico del propóleo frente a cepas de *Staphylococcus aureus* de origen clínico humano. *Rev. Cubana Farm.* 24: 45-50, 1990.
- Holland I., Miyares C., Sigarrosa A.-Análisis comparativo entre la acción del propóleo, la sulfaminoxalina y la sulfametacina en conejos afectados por coccidiosis. *Rev. Cubana Cienc. Vet.* 19: 99-104, 1988.
- Ikeno K., Ikeno T., Miyazawa C.-Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries. Res.* 25: 347-51, 1991.
- Kedzia B., Holderna E.-Investigations on the combined action of antibiotics and propolis on *Staphylococcus aureus*. *Herba Pol.* 32: 167-195, 1985.
- Kedzia A.-Sensitivity of anaerobic bacteria to the ethanolic extract of propolis. *Phytotherapie* 6: 4-8, 1990.
- Kesava Reddy G., Dhar S.C.-Effect of a new non steroidal anti-inflammatory agent on lysosomal stability in adjuvant induced arthritis. *The Italian Journal of Biochemistry* 36: 205-217, 1987.
- Krol W., Czuba Z., Dcheller S., Gabrys J., Gabric S., Shani J.-Antioxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem. Inf.* 21: 593-597, 1990.
- Kweifio-Okai G.-International Patent Classification N. C07J 63/00, A61K 31/56, International Application published under the patent cooperation treaty (PCT). World Intellectual Property Organization - International Bureau. International Filing Data. 30 October 1992.
- Lavie P.-Les substances antibacteriennes dans la colonie d'abeilles. *Ann. Abeille* 3: 201-319, 1960.
- Lavie P.-Les substances antibiotiques dans la colonie d'abeille. In: Chauvin R.-Traité de biologie de l'abeille. Masson et Cie. Paris 3: 1-115, 1992.
- Leca P.A.-La medicina egizia. Ed. Ciba Geigy, 1985, 148-275.
- Lindenfelser L.A.-Antimicrobial activity of propolis. *Am. Bee Journal*, 1967.
- Lindenfelser L.A.-Am. Bee J. 1967, 107: 90-92/130-131.38; Kohler F. D.B.R. Pat. 1958. In: Bonomi A., Marletto F., Bianchi M.-L'impiego della propoli nell'alimentazione delle galline ovaiole. *Avicoltura* 45 (4): 43-55, 1976.

-
- 391 Marletto F., Olivero G.-Ricerche su raccolta e utilizzazione della propoli da parte delle api. *Apicolt.Mod.* 72: 131-140, 1981.
- 401 Marcucci M.C.-Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26: 83-99, 1995.
- 411 Meresta L., Meresta T.-Antibacterial activity of flavonoid compounds of propolis, occurring in flora in Poland. *Bull. Vet. Inst. Pularwy* 28: 61-63, 1984.
- 42) Metzner J., Bekemeier H., Paintz M., Schneidewind R.-On the antimicrobial activity of propolis and propolis constituents *Pharmazie* 34: 97-102, 1979.
- 431 PapayV., Soltesz M., Csizmadia B., Toth L.-Kulonbozo helirol származó propolisz minták kémiai es farmacológiai virsgálata. *Acta Pharm Hung* 57: 143-151, 1987.
- 44) Pepeljnjak S., Jalenjak F., Maysinger O.-Flavonoid content in propolis extract and growth inhibition of *Bacillus subtilis*. *Pharmazie* 40: 122-123, 1985.
- 45) Proserpio-Martelli-Elementi di fitocosmesi. Ed.CAS, EINECS Inventario Europeo, 1971 :655.
- 46) Rangari V., Gupta V.N., Atal C.K.-Synthesis, anti-inflammatory and anti-arthritic activity of newer B -Boswellic acid derivatives. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 52: 158-160, 1990.
- 47) Safayhi H., Mack T., Sabieraj J., Anazodo M.I., Subramanian L.R., Ammon H.P.T.-Boswellic acid: novel, specific, nonredox inhibitors of 5-lipoxygenase. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 261: 1143-1148, 1992.
- 48) Schneidewind E.M., Buege A., Kala H., Metzner J., und Zsunker A.-Identifizierung eines aus Propolis isolierten, antimikrobiel wirksamen Inhaltsstoffes. *Pharmazie* 34: 103-6, 1979.
- 49) Serkedjieva J., Manalova N., Bankova V.-Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). *J. Nat. Prod.* 55: 294-302, 1992.
- 50) Sharma M.L., Khajura A., Kaul A., Sing S., Sing G.B., Atal C.K.-Effect of salai guggal ex-Boswellia serrata on cellular and humoral immune responses and leucocyte migration. *Agents Actions* 34: 161-164, 1988.
- 51) Sheller S., Szafiarski J., Tustanowski J., Nolewajka E., Stojko A.-Biological properties and clinical application of propolis I *Arzneim Forsch Drug Res* 27: 889-890. 1977.
- 52) Sukhy H.-Test à la propolis dans le traitement de la trichomonase vaginale. *Mujourd'hui l'aphithérapie. Supplement au n° 465*, 1987.
- 53) Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C., Vit-Olivier P., Ferreres F., Tomas-Lorente F.-Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela. *Phytochemistry* 34: 191-196, 1993.
- 54) Villanova R.V., Barbier M., Gonnet M., Lavie P.-Les flavonoides de la propolis. Isolement d'une substance bactériostatique: la pinocembrine. *Ann.Inst. Pasteur, Paris* 1987/88.
- 55) Zielonka E.-Effets de la propolis en cours de traitement d'arthrite rhumatoïde avec ankylose et raideur des articulations de la colonne vertébrale, évaluations cliniques et de laboratoire. *Aujourd'hui l'aphithérapie* S465: 41, 1987.
-