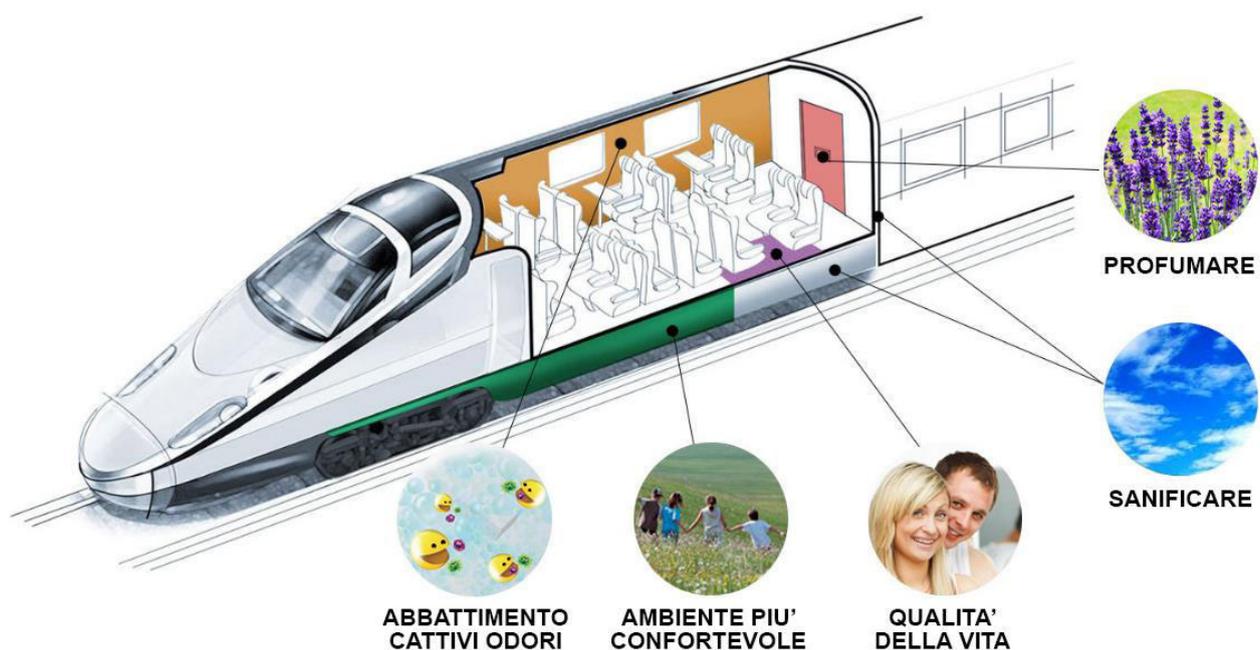




Seneca Air S.r.l.
Società unipersonale
Sede legale: Via Incoronata, 5 03039 Sora (FR);
Sede operativa: Via Borgonuovo 44, 03036 Isola del Liri (FR)
Tel. +39 0776.850005 Fax 0776.853701
C.F./P. IVA 02928150602
info@senecaair.com
www.senecaair.com

SISTEMI DI SANIFICAZIONE ATTIVA PER IL SETTORE FERROVIARIO



1.LA QUALITÀ DELL'ARIA

A bordo dei vagoni treno, all'interno delle stazioni, l'aria che respiriamo può presentare cattivi odori ed essere contaminata da virus, batteri, funghi e muffe a causa delle condizioni tipiche presenti a bordo come l'alta densità di occupazione, l'elevata umidità e la promiscuità tra locali tecnici e i locali vita. Perfino gli stessi impianti di trattamento e distribuzione dell'aria possono diventare elementi attivi di contaminazione.



CAR001 CARAVAGGIO

Seneca Air Srl azienda specializzata in sistemi di **Air quality**, è in grado di offrire alla sua clientela una gamma completa di prodotti per aumentare il comfort a bordo e garantire sicurezza e salubrità dell'aria all'interno dei vagoni treno

Grazie alla conoscenza di tecnologie innovative e alla collaborazione con brand leader in questo campo, Seneca Air ha sviluppato un sistema per la **purificazione dell'aria ad incasso**, "stand alone" di facile installazione e ridotto ingombro.

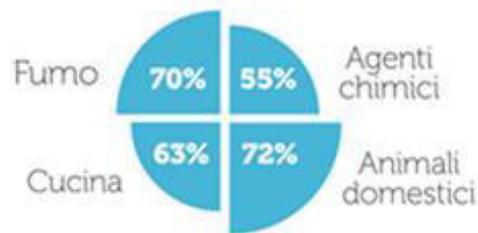
CAR001 CARAVAGGIO

- Modello: Liberty
- Misure: 290 * 106 * 272 millimetri
- Potenza / Tensione :DC 12V / 6W
- Installazione: Montaggio a parete e connessione UTA
- Copertura : 500 -800 metri cubi
- Capacità della bottiglia: 500ml
- Consumo di olio: 1,8 ml / h \pm 5%
- Peso: 5,4 kg
- Materiale: Metallo
- Tempo di lavoro regolabile: Il tempo di lavoro e il tempo di arresto sono regolabili ciclicamente tra i 5 ed i 300 secondi
- È possibile impostare quattro periodi di lavoro.
- È possibile impostare giorni di lavoro. Ad esempio, dal lunedì al sabato, dal mercoledì alla domenica, ecc. Ogni giorno è programmabile.

RIDUZIONE BATTERI E MUFFE



RIDUZIONE ODORI



Specifiche tecniche

CODICE	DESCRIZIONE	ALIMENTAZIONE	ASSORBIMENTO	DIMENSIONI	PESO
		(V)	(W)	(mm)	(Kg)
CAR001	MACCHINA NEBULIZZATRICE	12	6	L290W106H272	5,4

I PRODOTTI SENECA AIR

Seneca Air a differenza di quanto oggi presente sul mercato, sfrutta le proprietà terapeutiche delle piante, attraverso l'impiego degli idrolati derivanti dal mondo vegetale.

Gli idrolati, per poter essere utilizzati a scopo medico devono essere qualitativamente controllati, puri, standardizzati nei loro costituenti e possibilmente biologici.

I saggi biologici vengono utilizzati per descrivere e spiegare l'azione degli idrolati nebulizzati, come ad esempio l'influenza della menta piperita sul trasporto intestinale (Beesley *et al.*, 1996); l'effetto degli idrolati nebulizzati sulla permeabilità della pelle (Abdullah *et al.*, 1996); gli effetti sulle fibre dei muscoli scheletrici (Fogaca *et al.*, 1997) e lo screening di idrolati per lo studio delle proprietà analgesiche (Aydin *et al.*, 1996) e antinfiammatorie (Maruyama *et al.*, 2005). Un crescente numero di aromaterapisti e di fisioterapisti stanno utilizzando gli idrolati sia nella pratica privata che all'interno di ospedali ed alcuni risultati sui positivi effetti degli idrolati è stato riportato nelle principali riviste di aromaterapia (The Aromatherapist Journal, Aromatherapy, The International Journal of Aromatherapy).

La determinazione e il raggruppamento di centinaia di differenti composti aromatici che rientrano nella composizione degli idrolati, rappresenta una fase importante nella comprensione della loro azione terapeutica.

Esistono tuttavia proprietà specifiche per molte molecole aromatiche.

E' tuttavia molto importante usare sempre idrolati di alta qualità. Nonostante la diversa e variabile composizione chimica e gli specifici effetti terapeutici, tutti gli idrolati hanno in comune alcune proprietà generali: **antisettiche, antibatteriche, antifungine, antivirali, analgesiche, antinfiammatorie, antitossiche, digestive, drenanti, tonificanti, cicatrizzanti, ormonali, immunostimolanti, mucolitiche, espettoranti, spasmolitiche.**

Gli idrolati e le molecole aromatiche sono stati usati e tutt'ora lo sono, come agenti terapeutici.

La conoscenza analitica della composizione degli idrolati permette una applicazione più mirata così come la dettagliata conoscenza del meccanismo di azione contribuisce a dare maggiore rilievo ai componenti aromatici: queste due condizioni permettono l'uso appropriato degli idrolati in diversi settori di applicazione.

La Commonwealth Industrial Gases (GIG), ha messo a punto un programma di trattamento per i condotti dell'aria condizionata, utilizzando un "batigas", (o gas antibatterico), per creare una "Healthzone", (zona salubre), all'interno degli ambienti.

Nel nostro caso, una dose controllata di idrolati viene introdotta nel sistema di condizionamento dell'aria a scadenze regolari, per inibire la crescita di funghi, muffe e batteri che prosperano normalmente nelle canalizzazioni dei sistemi di condizionamento. Aria più sana da respirare, meno infezioni per il tratto respiratorio, meno formazione di muffa sulle pareti, meno contaminazione delle aree di trattamento degli alimenti, e tanti altri sono i risultati documentati nelle situazioni in cui è stato attivato questo sistema.

Seneca Air, anziché inserire un gas sottopressione, inietta nelle condotte aerauliche o direttamente in ambiente, una aerosol secco, una nebulizzazione finissima, in sospensione, (paragonabile al fumo di sigaretta), senza adduzione di acqua, nè alcol, nè propellenti in genere, solo ed esclusivamente attraverso l'utilizzo di idrolati puri al 100%, diluiti in vettore neutro.

Il sistema Seneca Air è un nuovo modo di trattare l'aria, proponendo una tecnologia innovativa ed efficace. Essa si basa sull'applicazione della tecnica della nebulizzazione con il principio dell'effetto Venturi, per cui la pressione di una corrente fluida aumenta con il diminuire della velocità e ne costituisce il brevetto depositato Seneca Air.

Al contrario dei sistemi convenzionali dove un prodotto attivo viene riscaldato, bruciato o azionato sottoforma di particelle liquide, propagando nell'aria composti volatili nocivi per l'uomo e per l'ambiente, il nostro sistema rilascia soltanto il principio attivo, non alterato da processi fisici o chimici.



1. Funzionamento delle apparecchiature

- **Sanificare** l'ambiente, con un **sanificante di origine naturale a base di idrolati puri al 100%**, per garantire un efficace abbattimento delle cariche batteriche;
- **Profumare** l'ambiente mediante **fragranze naturali utilizzando idrolati puri al 100%**, provenienti da agricoltura in bio-dinamica, destinati all'aromaterapia sfruttando oltre che le proprietà terapeutiche delle piante stesse, le intrinseche proprietà olfattive.
- **Abbattere le molecole male odoranti** utilizzando **essenze naturali a base di estratti vegetali** che abbiano proprietà ossidanti di captazione e distruzione delle molecole che creano miasmi e cattivi odori.

Per ottenere tutto ciò, si potrà utilizzare una singola miscela, che garantirà al contempo trattamenti di sanificazione, profumazione e abbattimento odori, tutti in presenza umana. Si garantirà quindi la qualità dell'aria **senza tuttavia dover chiudere le aree trattate, in quanto l'utilizzo degli idrolati, essendo sostanze naturali al 100% e senza adduzione di alcool ne elementi di sintesi, permette di ottenere ottimi risultati in termini di efficacia ed efficienza, garantendo e tutelando al tempo stesso l'uomo e l'ambiente in cui vive.**

2. Caratteristiche di un impianto di aria condizionata per carrozze ferroviarie

Tutti i nostri impianti vengono realizzati "custom", a seconda delle esigenze, dei metri cubi di aria da trattare, delle caratteristiche del ventilatore di mandata, tenendo presente della quantità di aria estratta e reimpressa.

In ogni carrozza, come da Voi illustratoci, vi sono due impianti. Riportiamo le caratteristiche di ciascun impianto, come Voi comunicateci:

Q_{max}	3200Mc/h
Q aria esterna	1125 Mc/h
Q aria ricircolo	2075 Mc/h

Riteniamo adatta allo scopo una macchina tipo “CARAVAGGIO”.

3. Il macchinario

La macchina, di piccole dimensioni, può essere installata in locali tecnici adiacenti al luogo del trattamento oppure è possibile posizionarla all'interno del controsoffitto (h min. 35 cm), ove presente.

La macchina quindi “crea” un piccolo circuito di aria compressa che, attraverso piccole tubazioni siliconiche Ø6mm, alimenta i vari terminali disposti all'interno dell'ambiente.



CAR001 CARAVAGGIO

CAR001 CARAVAGGIO

- Modello: Liberty
- Misure: 290 * 106 * 272 millimetri
- Potenza / Tensione :DC 12V / 6W
- Installazione: Montaggio a parete e connessione UTA
- Copertura : 500 -800 metri cubi
- Capacità della bottiglia: 500ml
- Consumo di idrolato: 1,8 ml / h \pm 5%
- Peso: 5,4 kg
- Materiale: Metallo
- Tempo di lavoro regolabile: Il tempo di lavoro e il tempo di arresto sono regolabili ciclicamente tra i 5 ed i 300 secondi
- È possibile impostare quattro periodi di lavoro.
- È possibile impostare giorni di lavoro. Ad esempio, dal lunedì al sabato, dal mercoledì alla domenica, ecc. Ogni giorno è programmabile.

4. Esempi di idrolati impiegati

➤ Lavanda

a. Idrolato di Lavanda: le proprietà per salute, bellezza, ambiente.



Lavanda: il più diffuso tra gli idrolati, rimedio naturale senza controindicazioni e dalle mille proprietà. Antisettico, cicatrizzante, tonico, antidepressivo, rilassante, rigenerante, riequilibrante, ideale per salute, bellezza, pelle e ambiente.

L'idrolato di lavanda rimedio versatile da avere sempre con se.

La lavanda è il più diffuso tra gli idrolati: grazie alla molteplicità dei suoi usi, alla grande efficacia in diversi ambiti, alla gradevolezza del suo profumo e alla sua bassa tossicità l'idrolato di lavanda è uno di quelli che non può mancare a chiunque si avvicini all'aromaterapia e un rimedio naturale da avere sempre con sé, anche per il pronto soccorso.

➤ Tea Tree Oil

b. *Idrolato di tea tree, proprietà e benefici*



Il Tea tree oil si estrae dalla *Melaleuca alternifolia*, detta anche Albero del the. La droga è costituita dalle foglie di *Melaleuca alternifolia* (fam. Myrtaceae), albero che cresce solo in una limitata area paludosa, lungo la costa nord del Nuovo Galles del sud, in Australia.

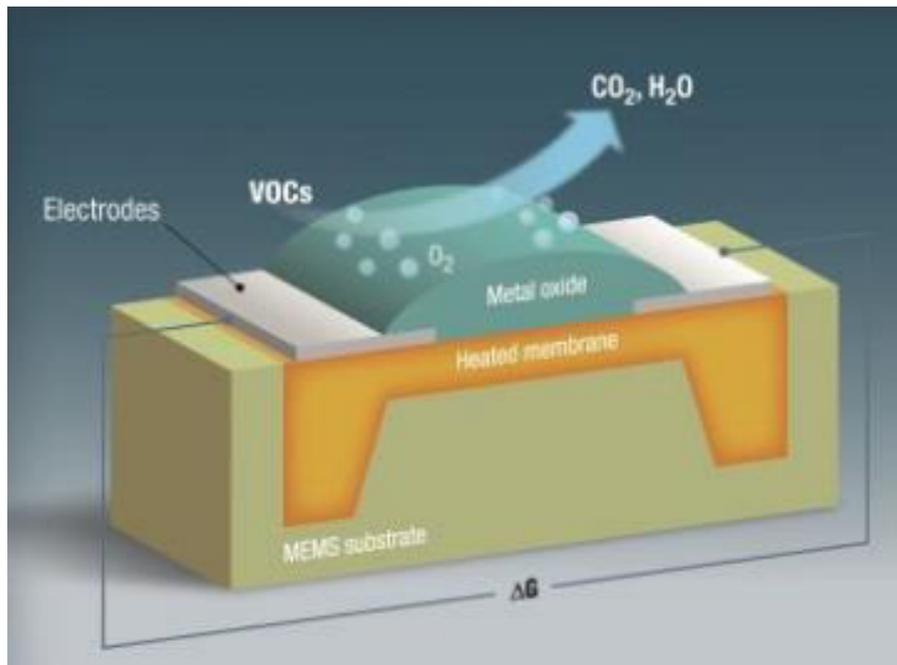
Dalle foglie si estrae un olio essenziale, dal quale poi si ricava l'idrolato, dal fortissimo odore e dal sapore assai intenso e caratteristico, cui si devono le proprietà che a questa pianta vengono attribuite.

L'idrolato di *Melaleuca* è un potente antisettico, antimicotico, antibatterico e antivirale, dalle proprietà fortemente deodoranti, conservanti, e leggermente anestetiche.

Il Tea tree oil contiene ben 48 composti organici, numero che spiega le sue numerose proprietà, ma le sostanze più significative per la sua attività salutare sono due in particolare: il Terpinene e il Cineolo; esse devono essere presenti nel prodotto finito in percentuali ben precise, percentuali che ne evidenziano la qualità.

5. Sensore combinato di rilevamento qualità dell'aria in ambiente

E' previsto il montaggio di un sensore COV per ciascun impianto che consente il monitoraggio della qualità dell'aria dell'ambiente, rilevando e misurando la quantità in aria di composti organici volatili nonché la concentrazione di cariche batteriche.



Sensore COV

I SISTEMI SENECA AIR GENERANO IONI OSSIDANTI NATURALI (PACMAN), I QUALI TRASPORTATI DAL FLUSSO DELL'ARIA, SONO IN GRADO DI DISTRUGGERE GLI AGENTI INQUINANTI CHE INCONTRANO, SIA NEI CANALI CHE IN AMBIENTE.



Modalità di funzionamento prevista

L'emissione di idrolato è tarata sulla portata d'aria esterna pari a 1125 Mc/h.

Al fine di non saturare l'ambiente in caso di blocco del prelevamento dell'aria esterna, è previsto che il flusso di idrolato venga interrotto.

Comemisuraridondante, vengono installati anche due sensori di VOC che interrompono l'emissione di idrolato in caso di superamento dei limiti.

CERTIFICAZIONI DI PRODOTTO



Marchio di qualità per i prodotti derivati da terreni preparati e coltivati con il metodo biodinamico di agricoltura



Organismo di controllo autorizzato con D.M. del M.I.R.A.A.F. n. 9697170 del 18/12/96 in applicazione del reg. CE n. 2092/91: CODEX srl Da agricoltura Biologica regime di controllo CE



Marchio di riconoscimento Europeo per i prodotti alimentari provenienti da agricoltura biologica controllata



Non è utilizzato nessun prodotto “geneticamente modificato”



Marchio di riconoscimento per i prodotti realizzati senza ingredienti di origine animale



Marchio che garantisce che ogni produzione è microbiologicamente controllata



Marchio di qualità BDIH per i cosmetici prodotti con materie prime naturali e provenienti da agricoltura biologica



Soluzioni Integrate per Migliorare la Qualità dell'Aria

DOSSIER SULL'APPLICAZIONE DEGLI OLI ESSENZIALI NEI VAGONI TRENO E BENEFICI



SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



www.senecair.com



info@senecair.com

Le proprietà biologiche degli oli essenziali sono ormai largamente documentate da una vasta letteratura che ascrive a queste miscele di composti volatili, azioni sull'uomo, sugli animali e sulle piante. Sono documentate in vitro attività anticancro, antinocicettive, antivirali, antiflogistiche, antiossidanti e soprattutto antimicrobiche.

Scopo

Scopo del presente dossier è illustrare come gli oli essenziali, in particolare di Lavanda e Tea Tree Oil (Albero del Te) siano riconosciuti ad uso terapeutico, passando in rassegna le monografie di quelli riportati sia nella Farmacopea Italiana che Europea, ma anche quelli attualmente consentiti per la profumazione degli ambienti.

Introduzione agli Oli Essenziali

Gli oli essenziali sono uno degli strumenti più potenti per curarsi in modo naturale. Sono **innumerevoli** le **proprietà degli oli essenziali**, così come i segreti dell'aromaterapia.

Gli oli essenziali prendono il nome dalla pianta da cui derivano ed inoltre, poiché possono essere estratti da varie parti della pianta come fiori, frutti, radici, foglie... dalla stessa pianta è possibile ricavare vari tipi di oli essenziali.

Le proprietà degli oli essenziali dipendono dai **principi attivi** della parte della pianta da cui derivano, per cui ogni olio ha delle proprietà specifiche che vengono sfruttate dall'aromaterapia, una branca della fitoterapia, per curare molte affezioni comuni sia fisiche che psicologiche, e non solo.

Fin dall'antichità comunque le essenze aromatiche erano note per alcune comuni proprietà quali:

- Antisettica
- Antinfiammatoria.
- Antireumatica
- Depurativa
- Stimolante
- Diuretica
- Cicatrizzante
- Dimagrante
- Rilassante ed antidepressivo

Gli oli essenziali vanno utilizzati in base alle caratteristiche della sostanza e all'obiettivo da trattare. Essi svolgono un'azione molto forte e diretta su organi ed apparati specifici (respiratorio, sistema venoso, apparato digerente, ecc.) e per questo è assolutamente necessario attenersi alle dosi e agli usi consigliati.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



Le vie di somministrazione utilizzate sono: via orale, **via polmonare** e via cutanea.

In particolare l'assunzione per **via polmonare** può avvenire attraverso:

- Inalazioni di oli essenziali opportunamente diluiti dallo 0.1% al 10% che si effettuano usando gli specifici apparecchi per l'aerosol.
- Suffumigi che consistono nell'inalare i vapori emanati da acqua calda e oli essenziali.
- Inalazioni a secco che consistono nel respirare le gocce di oli essenziali versate su un fazzoletto.

Grazie alle loro caratteristiche gli oli essenziali possono essere **utilizzati** sia a scopi terapeutici per la cura ed il benessere del corpo e della mente, sia per **deodorare** e **sanificare l'aria** e creare ambienti profumati e rilassanti.

E' sufficiente diluire poche gocce di oli essenziali in un olio di base neutri diffonderlo attraverso appositi nebulizzatori o anche semplicemente diluirli in acqua per delle vaporizzazione, si ottiene così:

- **Purificazione degli ambienti** (oli essenziali di eucalipto, ginepro, lavanda, limone, timo... ecc),
- Profumazione degli ambienti (oli essenziali di lavanda, arancio amaro, verbena...),
- Allontanamenti degli insetti e altri animali molesti (es. topi, piccioni, zanzare, mosche) ...(oli essenziali di, lavanda, geranio, menta).

L'aromaterapia è una forma di medicina alternativa che sfrutta le proprietà degli oli essenziali al fine di conferire all'individuo un senso di benessere generalizzato, che coinvolga tanto il fisico quanto la mente e la sfera emotiva.

L'interesse per le medicine naturali e per l'aromaterapia in particolare è gradualmente aumentato nel corso degli anni, tanto che, al giorno d'oggi, sono molti gli individui che ricorrono all'uso di rimedi aromaterapici per trattare o alleviare piccoli disturbi.

Gli effetti dell'aromaterapia possono essere molteplici, variabili in funzione del tipo di olio essenziale impiegato, del modo d'uso (percezione dell'essenza tramite l'olfatto, applicazione sulla cute, uso orale, ecc.) e della concentrazione cui viene utilizzato.

Secondo chi pratica l'aromaterapia, infatti, utilizzando il giusto olio essenziale, alla giusta concentrazione e nel modo corretto, è possibile alleviare numerosi disturbi.

In questo articolo, ci si concentrerà soprattutto sugli effetti dell'aromaterapia esercitati attraverso l'olfatto a livello del sistema nervoso centrale (attività neurotrope) e sul piano emotivo.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



L'impiego di determinate essenze odorose (oli essenziali) durante la messa in pratica delle tecniche di rilassamento, non solo può facilitare la distensione, ma può evocare immagini, risvegliare ricordi, scatenare emozioni, svolgendo un ruolo chiave in quello che è il raggiungimento dello stato di tranquillità ricercato attraverso le suddette tecniche.

Durante una seduta di rilassamento guidato, le suggestioni esterne più efficienti sono quelle che aggirano l'interferenza critica della mente conscia e razionale; ciò è quello che le essenze sembrano fare: dirigersi - attraverso l'olfatto - direttamente alla parte più interna del cervello. Tale parte corrisponde ad una struttura primitiva chiamata sistema limbico. Quest'ultimo è la porzione di cervello responsabile del controllo delle emozioni, degli stati d'animo e risulta strettamente integrata con le terminazioni olfattive; tant'è che alcuni considerano il naso come una sorta di "antenna emozionale" direttamente in contatto con il mondo esterno.

È comunque bene precisare che ciascun individuo possiede un proprio bagaglio di reminiscenze olfattive in grado di evocare emozioni e sensazioni sia piacevoli che spiacevoli. Per fare un esempio pratico, l'essenza di lavanda è notoriamente utilizzata per rilassare e infondere tranquillità; tuttavia, alcune persone potrebbero associare alla fragranza di quest'olio essenziale brutti ricordi e sensazioni poco piacevoli che non infondono per nulla calma e tranquillità. Pertanto, il tipo di emozioni e sensazioni che una data essenza può far emergere nell'individuo sono soggettivi e possono differire in funzione del trascorso e dei ricordi della persona presa in considerazione.

Attività sul Sistema Nervoso

Effetti dell'Aromaterapia: attività neurotrope ed effetti sul sistema nervoso centrale

Gli effetti dell'aromaterapia esercitati sul sistema nervoso possono essere differenti in funzione dell'olio essenziale o del profumo presi in considerazione.

I profumi e le essenze sono composti da miscele di differenti sostanze (principalmente volatili) responsabili sia della stessa fragranza emanata dal prodotto che degli effetti esercitati a livello del sistema nervoso centrale (attività neurotrope).

La tabella sotto riportata illustra gli effetti che essenze e profumi possono esercitare sul sistema nervoso centrale e quali sono i possibili composti ritenuti responsabili di questi stessi effetti. In particolare, verranno suddivisi gli oli essenziali cui vengono attribuite proprietà stimolanti il sistema nervoso centrale da quelli qui vengono attribuite proprietà sedative, ansiolitiche e antidepressive (queste ultime, non vanno intese come effetti farmacologici, ma come la capacità di esercitare un effetto calmante in presenza di sintomi ansiosi o depressivi).

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



Qualità e nuove prospettive in ambito scientifico

MEDICINA AROMATICA IN CLINICA UMANA

Paolo Campagna

Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali, Roma

Le basi razionali di un completo sviluppo clinico degli oli essenziali trovano oggi riscontro nell'aromaterapia francese (denominata appunto clinica), che considera la somministrazione degli oli essenziali anche oltre all'utilizzo topico o inalatorio, tramite enteroclistmi o preparazioni orali, sotto la scrupolosa supervisione di medici e all'interno di una molteplice strategia terapeutica rigorosamente allineata ai criteri della medicina accademica (a tale aromaterapia si ispira anche l'indirizzo normativo accordato dalla Commissione Europea di Bruxelles).

Lo straordinario potere di penetrazione e diffusibilità degli oli essenziali all'interno del corpo umano (risaputa almeno dai tempi di Teofrasto), ne ha comunque da tempo consolidato l'applicazione esterna che assume un suo distinto significato, permettendo tra l'altro di trarre benefici non irrilevanti anche tra alcuni oli essenziali che difficilmente potrebbero trovare impiego (per tossicità o causticità) per via interna (1).

L'uso degli oli essenziali in medicina trova oggi un razionale impiego nelle affezioni dermatologiche di varia eziologia, in ferite più o meno infette, in affezioni delle vie respiratorie batteriche e virali, nelle malattie dell'apparato gastro-intestinale, nelle patologie batteriche urinarie, nel trattamento dei parassiti intestinali e in genere anche in altre malattie infettive microbiche. L'aromaterapia trova poi spunto anche in patologie di ambito specialistico, come in neuropsichiatria e in ambito ginecologico, con interessi clinici di notevole prospettiva attribuiti rispettivamente a oli essenziali di *Lavandula officinalis*, *Citrus aurantium* var. amara fiori (neroli) e *Melaleuca alternifolia* (*Tea Tree Oil*, TTO) (1).

L'uso di questi preziosi estratti (distillazione in corrente di vapore, spremitura, CO2 supercritica) può essere altresì proposto a integrazione della terapia medica convenzionale, secondo criteri di sinergia farmacologica ed efficacia. Il complesso meccanismo di azione, ostacolando la sopravvivenza dei microrganismi e rinforzando le difese immunitarie, non deteriorando la flora batterica intestinale e riducendo al minimo le resistenze, fa sì che alcuni oli essenziali possano essere usati come rimedi topici, inalatori o, in certi casi per uso interno, anche per la decolonizzazione di MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) (2) o per il trattamento integrativo di altre infezioni microbiche resistenti ai comuni antibiotici. La letteratura, infatti, ci propone ormai una miriade di lavori *in vitro*, significativi in fase preclinica, con risultati positivi, che avvalorano l'ipotesi di un potenziale impiego clinico degli oli essenziali in affezioni "difficili" umane come quelle da *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (3), *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger* (4, 5) fino al *Clostridium difficile* e la stessa *Candida albicans* (4-7). Tra i componenti più attivi del TTO sembra proprio che il terpinen-4-olo sia il responsabile dell'attività *in vivo* anche su ceppi umani resistenti (7).

Gli oli essenziali che sembrano avere maggiore potenziale sinergico in tal caso sono proprio quelli più ricchi di alcoli e fenoli, ma anche di aldeidi, per cui si richiedono maggiore cautela e particolare esperienza e conoscenza nelle modalità di somministrazione e posologia, per evitare fenomeni di sensibilità, tossicità e accumulo.

Nelle infezioni batteriche con o senza sovrapposizioni fungine, ecco quindi gli oli essenziali puri e tipizzati di *M. alternifolia*, varie specie di timo tra cui *Thymus vulgaris*, *Corydothymus capitatus*, *Origanum vulgare* e

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



www.senecaair.com



info@senecaair.com

Origanum compactum, *Cinnamomum zeylanicum*, supportati da tante evidenze laboratoristiche e precliniche.

Si consigliano spesso gli oli essenziali puri tipizzati (a chemotipo), disciolti nella propoli nei pazienti con flogosi di interesse otorinolaringoiatrico e del cavo orale (gengivo-stomatiti anche aftose, mugghetto, candidosi), sia nelle forme virali (molto frequenti) che in quelle batteriche, talvolta in associazione agli antibiotici di sintesi nelle forme miste di un certo impegno. In altre situazioni ci si può avvalere invece di preparazioni come capsule molli oleose o opercoli di gelatina (gèlules), con il vantaggio di moderarne la lesività gastrica, ridurre il contatto diretto con la mucosa e favorirne l'assorbimento tramite oli vegetali o altri eccipienti.

Ciò avviene ad esempio nei casi di colon irritabile (*Irritable Bowel Syndrome*, IBS) laddove molto valida risulta la terapia *per os* con opercoli gastroresistenti di oli essenziali di *Mentha piperita*, efficaci almeno quanto la trimebutina, ma con alcune controindicazioni e avvertenze. L'uso topico comunque appare generalmente più sicuro, se vengono rispettate le norme di buona preparazione tramite veicoli adeguati e percentuali razionali. Ciò vale sia per le ferite chirurgiche che per le infezioni fungine, laddove i comuni antibiotici/antimicotici possono essere potenziati con l'aggiunta di particolari oli essenziali puri e tipizzati, a sostegno persino delle medicazioni usuali che si praticano in ambiente ospedaliero (8, 9). Uno studio clinico controllato ha recentemente valutato l'efficacia e la tollerabilità di un prodotto topico al 5% in oli essenziali di *M. alternifolia* vs placebo in pazienti con *tinea capitis* da *Pityrosporum ovale*.

L'azione si manifesta a concentrazioni medie o medio-alte; data la sua notevole liposolubilità questo olio essenziale viene ben assorbito anche se utilizzato per via topica.

Uno studio *in vitro* ha esaminato l'effetto dell'olio essenziale di *Melaleuca* su germi prelevati dalla bocca. Si è visto che le MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) e le MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) variavano tra lo 0,003 e il 2%. Le MIC più alte si avevano per i ceppi di *Actinomyces* spp., *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mitis* e *Streptococcus sanguis*, mentre quelle più basse si riferivano ai ceppi *Prevotella* spp., isolati di *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Veillonella*. I germi più resistenti erano specie di *Streptococcus*, *Fusobacterium* e *Lactobacillus*. Si è visto che l'olio essenziale di *M. alternifolia* allo 0,5% causava una riduzione significativa della crescita delle colonie di *Streptococcus mutans* e di *Lactobacillus rhamnosus*, con attività citocida sui batteri suddetti piuttosto evidente. I dati di questo studio indicano che il TTO può essere utile per il mantenimento dell'igiene orale (10).

Uno studio clinico controllato ha valutato se il prurito oculare associato alla demodicosi, rara parassitosi trasmessa dal cane, potesse essere trattato con un massaggio con un unguento contenente il 5% di TTO. Sono stati arruolati 24 pazienti trattati con la clorotetraciclina, che dovevano applicare l'unguento suddetto o un unguento placebo per 1 mese. Si esaminava ogni 2 settimane l'intensità del prurito. Si notava che l'unguento a base di TTO riduceva significativamente l'intensità del prurito ($p < 0,05$) e che al termine del mese di trattamento 16 pazienti non avevano più prurito (11).

Recentemente si è assistito a inaspettate e interessanti verifiche antimicrobiche anche per oli essenziali tradizionalmente utilizzati in altri campi, come ad esempio *Pimpinella anisum*, nella chemotipizzazione a trans-anetolo, che ha mostrato *in vitro* un ampio spettro antimicrobico di medio grado se utilizzato da solo, se invece esso è combinato a sostanze naturali come polygodiale e nagilactone, grazie alla prevalenza di anetolo, ha dimostrato di possedere una significativa attività antifungina sinergica contro un lievito come *Saccharomyces cerevisiae* e un diffusissimo lievito patogeno opportunista umano, la *Candida albicans* (12, 13); e così per la sinergia di oli essenziali di cannella con amfotericina B e clindamicina per particolari patologie e con vari disinfettanti per il trattamento di infezioni da *Staphylococcus epidermidis*, come confermato da esperienze *in vitro* su isolati clinici (14).

E ancora uno studio *in vitro* ha valutato se vi fosse un'azione sinergica antibatterica tra l'olio essenziale di *M. alternifolia*, di origano, di *Aniba rosaeodora* e di *Pelargonium graveolens* e la gentamicina. Si utilizzavano batteri sia Gram positivi sia Gram negativi. Si è visto che tutti questi oli essenziali avevano un'azione antibatterica sinergica con quella della gentamicina, con effetto migliore per la combinazione aniba +

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



gentamicina e per quella pelargonium + gentamicina. Questa azione sinergica era molto marcata contro *Acinetobacter baumannii* ATCC19606. Lo studio indica che questi oli essenziali possono migliorare l'azione antibatterica della gentamicina (15).

Altra considerazione degna di nota nel campo microbiologico è poi che, dai risultati ottenuti in letteratura, è emerso che molti degli oli essenziali ritenuti più attivi (e tra essi l'immane TTO) che vengono normalmente testati, hanno in qualche modo un effetto sull'inibizione o sul rallentamento della produzione del biofilm. Tale inibizione è però molto variabile e influenzata da diversi fattori quali il ceppo testato, il metodo d'analisi utilizzato, l'olio essenziale e la sua concentrazione, oltre che il tempo di contatto (16).

Recenti problematiche inoltre li coinvolgono in interazioni farmacologiche con altri farmaci, in relazione alla metabolizzazione epatica (citocromo P450). In conclusione, per una equilibrata somministrazione ambulatoriale medica degli oli essenziali, qualità e appropriatezza degli oli essenziali, posologia e durata dei cicli terapeutici, controllo di esami ematochimici, esperienza farmacologico-clinica e conoscenza del paziente, rappresentano senza dubbio i capisaldi del protocollo aromaterapico (17).

Bibliografia

1. Campagna P. *Farmaci vegetali*. Torino: Minerva Medica editore; 2008.
2. Thompson G, et al. A randomized controlled trial of tea tree oil (5%) body wash versus standard body wash to prevent colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in critically ill adults: research protocol. *BMC Infect Dis* 2008;8:161.
3. Bouhdid S, Abrini J, Zhiri A, Espuny MJ, Manresa A. Investigation of functional and morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Origanum compactum* essential oil. *J Appl Microbiol* 2009;106:1558-68.
4. Pinto E, Pina-Vaz C, Salgueiro L, Gonçalves MJ, Costa-de-Oliveira S, Cavaleiro C, Palmeira A, Rodrigues A, Martinez-de-Oliveira J. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J. Med Microbiol* 2006;55:1367-73.
5. Ribeiro Salgueiro L. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus capitellatus* against *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte strains. *Flavour and Fragrance Journal* 2006;5(21):749-53.
6. Chami F, Chami N, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *J Antimicrob Chemother* 2004;54:909-14.
7. Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. *In vivo* activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and resistant human pathogenic *Candida* species. *BMC Infect Dis* 2006;3(6):158.
8. Fadli M, Saad A, Chevalier J, Mezrioui NE, Pagès JM, Hassani L. Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine* 2012;19(5):464-71.
9. Stea S, Beraudi A, De Pasquale D. Essential oils for complementary treatment of surgical patients: state of the art. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014;2014:726341
10. Hammer KA, Dry L, Johnson M, Michalak EM, Carson CF, Riley TV. Susceptibility of oral bacteria to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil *in vitro*. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18(6):389-92.
11. Gao YY, Xu DL, Huang IJ, Wang R, Tseng SC. Treatment of ocular itching associated with ocular demodicosis by 5% Tea Tree Oil Ointment. *Cornea* 2012;31(1):14-7.
12. Kubo I, Himejima M. Anethole, a synergist of polygodial against filamentous microorganisms. *J Agric Food Chem* 1991;39(12):2290-2.
13. Kosalec I, Pepeljnjak S, Kustrak D. Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharmaceutica* 2006;55(4):377-85.
14. Langeveld WT, Veldhuizen EJ, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev Microbiol* 2014;40(1):76-94.
15. Rosato A, Piarulli M, Corbo F, Muraglia M, Carone A, Vitali ME, Vitali C. *In vitro* synergistic antibacterial action of certain combinations of gentamicin and essential oils. *Curr Med Chem* 2010;17(28):3289-95.
16. Sudjana AN, Carson CF, Carson KC, Riley TV, Hammer KA. *Candida albicans* adhesion to human epithelial cells and polystyrene and formation of biofilm is reduced by sub-inhibitory *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil. *Med Mycol* 2012;50(8):863-70.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



17. Campagna P. *Lezioni di fitoaromaterapia, Corso triennale di Perfezionamento*. Viterbo: Università della Tuscia; 2014.

AROMATOGRAMMA

Maura Di Vito, Antonietta Girolamo, Francesca Mondello
Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

L'aromatogramma è un test di suscettibilità *in vitro*, ispirato all'antibiogramma, che permette di determinare l'attività inibente che oli essenziali a nota attività antimicrobica e scelti secondo specifiche caratteristiche gascromatografiche esercitano sulla crescita microbica.

Fonti storiche riportano che il primo ad ideare la metodica fu, nel 1971, M. Girault; a questo ginecologo francese si deve lo sviluppo della tecnica con applicazione clinica anche se prima di lui altri studiosi, come Rideal, Walker, Schröder e Missing (1949) misero a punto un primo rudimentale metodo di misurazione del potere battericida degli oli essenziali; infine, alcune fonti fanno risalire a Gattefossè (1926), i primi usi empirici degli oli essenziali a scopo disinfettante (1).

Al fine di garantire un risultato di qualità è stato necessario, negli anni, standardizzare la metodica in modo da renderla ripetibile e in linea con quanto raccomandato dagli organi di controllo quali la *World Health Organization (WHO)* e il *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

L'aromatogramma è eseguito con le stesse modalità dell'antibiogramma, attraverso i metodi di diffusione su agar solido o di diluizione in brodo; ovvero seminando la specie batterica interessata in un terreno di coltura a contatto con concentrazioni scalari di oli essenziali e valutandone la crescita dopo un idoneo periodo di incubazione. L'azione inibente dell'olio essenziale viene quindi valutata misurando gli aloni di inibizione più o meno estesi, per i test eseguiti su agar solido, oppure mediante lettura della torbidità del terreno di crescita per i test eseguiti in brodo. Quest'ultimo è il metodo di riferimento per valutare la suscettibilità antimicrobica e, contestualmente, determinare la minima concentrazione inibente (*Minimum Inhibitory Concentration, MIC*), intesa come la più bassa concentrazione dell'agente antimicrobico in grado di inibire la crescita microbica *in vitro*.

Il metodo di diffusione su agar è il metodo qualitativo maggiormente usato per la realizzazione degli aromatogrammi ma, anche se apparentemente di facile esecuzione, presenta dei limiti quali la differente capacità di diffusione degli oli essenziali in agar e la variabilità operatore dipendente che, in un'analisi clinica di laboratorio, devono necessariamente essere superati. Inoltre, il metodo di diffusione in agar presenta il limite di essere un test solo di tipo qualitativo o al più semi-quantitativo cioè in grado di identificare la presenza o l'assenza di sensibilità del patogeno agli oli essenziali testati.

Secondo quanto delineato dalle linee guida dello *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)* versioni 2.1 (2), 3.0 (3), 4.0 (4) dal 2012 in vigore presso tutti i laboratori di analisi italiani, per il test di diffusione in agar si usa un terreno nutritivo del tipo Mueller Hinton (MH), eventualmente modificato con l'aggiunta di sangue di montone per batteri più esigenti come ad esempio *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.* e *Listeria monocitogenes*. Questo terreno presenta un pH stabile tra 7,2-7,4 unità che permette non solo la crescita dei ceppi patogeni da analizzare ma anche la formazione di un alone di inibizione standard che potrebbe variare usando altri terreni caratterizzati sempre da carboidrati fermentabili ma con pH differenti. Differentemente, per gli aromatogrammi di lieviti è consigliabile l'uso di terreni del tipo Sabouraud Destrosio Agar.

Le linee guida internazionali definiscono non solo le condizioni di conservazione del terreno solido ma anche la quantità di terreno da usare nel test, e, nel particolare, circa 25 mL in piastra circolare da 90 mm, 31 mL in

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



www.senecaair.com



info@senecaair.com

piastra circolare da 100 mm, 71 mL in piastra circolare da 150 mm oppure 40 mL in una piastra quadrata da 100 millimetri (2-4).

La standardizzazione della quantità di terreno usata per l'esecuzione del test è importante perché, variazioni dello spessore, possono comportare una variazione degli aloni di inibizione causata da una diversa diffusione degli oli essenziali. Lo spessore ideale del gel, indicato nelle linee guida, è di 4 mm, in questo modo si garantisce una corretta e ripetibile diffusione dell'olio essenziale.

Di fondamentale importanza, per l'esecuzione di un buon test microbiologico, è la semina del germe patogeno. A questo proposito, nel caso di batteri, sarà preparato un inoculo del germe patogeno prelevando con un'ansa sterile circa 1-2 colonie di germi da risospendere in soluzione salina fino ad ottenere una torbidità al turbidimetro pari a 0,5 McFarland corrispondente a circa $1-2 \times 10^8$ UFC (Unità Formanti Colonia)/mL.

Il brodo così ottenuto sarà seminato sul terreno di coltura imbevendo un tamponcino sterile nella soluzione e strisciandolo, nelle tre dimensioni, su tutta la superficie dell'agar. Dopo la semina di un'idonea quantità di sospensione batterica e con l'aiuto di pinzette sterili, saranno posti sull'agar uno o più dischi di carta assorbente (del tipo Whatman) del diametro di 6 mm precedentemente impregnati con oli essenziali a differenti diluizioni.

Considerata la natura idrofoba dell'olio essenziale è necessario che quest'ultimo venga solubilizzato in un idoneo veicolo (dimetilsolfossido, DMSO, al 10%; o Tween 80 allo 0,5% in v/v) per facilitarne la diffusione in agar.

I dischi, così trattati e posizionati, dovranno distare tra loro e dal bordo della piastra non meno di 2 cm per evitare sovrapposizioni degli aloni di inibizione e, comunque, dovranno essere distinti per colore o per contrassegno dell'iniziale dell'olio essenziale o della sua diluizione. Inoltre, il disco di carta Whatman sarà posto sulla piastra Petri, applicando una leggera pressione, non prima di cinque minuti e non oltre i quindici minuti dall'inoculo del germe patogeno poiché ciò permette all'agar di asciugarsi senza però ottenere la preincubazione del germe antecedente l'apposizione dei dischi (2-5).

Alcuni autori riportano un ulteriore trattamento dei dischi, precedente alla fase impregnante, caratterizzato da immersione in alcol 90° e successiva sterilizzazione a 110°C (6); i dischi, così trattati, potranno essere conservati per periodi non superiori ai 3 mesi se posti in contenitori sterili e in idonee condizioni di conservazione.

Come è noto, gli oli essenziali sono caratterizzati sia da principi attivi in forma liquida che volatili. Pertanto, per evitare che alcuni principi attivi volatili interferiscano tra loro producendo risultati non ripetibili e compromettendo la corretta interpretazione del dato, non si dovranno posizionare, nella stessa piastra Petri, più dischi imbevuti ciascuno con un differente olio essenziale.

I primi ad ipotizzare un'azione delle componenti volatili sono stati Park *et al.* (7).

Quest'ultimi dopo aver sperimentalmente osservato che le uniche componenti dell'olio essenziale in grado effettivamente di diffondere sul terreno solido erano quelle idrosolubili, mentre le altre evaporavano oppure permanevano sul dischetto di nitrocellulosa, conclusero che, con il test di agar diffusione, si poteva ottenere un'alterata stima delle reali potenzialità antibatteriche degli oli essenziali caratterizzati da componenti attivi volatili.

Successivamente, altri autori notarono come, in alcuni casi, le componenti volatili erano in grado di determinare l'aumento degli aloni di inibizione, poiché, dopo un'iniziale evaporazione dell'olio essenziale deposto in piastra, si poteva verificare una nuova deposizione di questo per condensazione. Per verificare quanto detto è stato necessario modificare il test classico di agar diffusione in modo da renderlo semi-quantitativo e in grado di quantificare realmente l'incidenza delle componenti volatili sulla formazione dell'alone di inibizione.

Per la modifica del test classico è stato sufficiente porre il disco imbevuto di olio essenziale in adesione al coperchio della Petri evitando il contatto diretto con l'agar seminato; in questo modo, solo le componenti volatili dell'olio essenziale, evaporando, potevano raggiungere le colonie ed esercitare la loro azione inibente. Misurando l'alone di inibizione così ottenuto e relativizzandolo a quello sviluppato con il test classico di agar

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



diffusione, è possibile ottenere una stima semi-quantitativa della reale azione delle componenti volatili di un olio essenziale.

Dopo aver introdotto per ogni test una piastra di controllo, tutte le piastre seminate saranno incubate per 16-20 ore (24-48 ore per i lieviti) a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ e, a seconda del germe da studiare, in presenza di CO_2 alla concentrazione del 4-6%. (2, 3, 4, 8).

Al termine del tempo di incubazione sarà possibile valutare l'inibizione esercitata da ciascun olio essenziale misurando il diametro di inibizione della crescita batterica.

Riportando i valori rilevati su di un grafico avente per ascisse il nome degli oli essenziali testati e in ordinate la misura dei diametri espressa in mm, sarà possibile individuare gli oli essenziali che esercitano la maggiore azione inibente distinguendoli da quelli che ne esercitano una minore. Questo grafico rappresenterebbe il "profilo aromatico" del germe preso in considerazione.

È bene ricordare di eseguire il test con un olio essenziale titolato nel suo contenuto chimico mediante gascromatografia e appartenente allo stesso lotto che sarà poi usato *in vivo*; solo in questo modo sarà possibile evitare il fattore confondente della naturale variabilità chimico-fisica di ciascun olio essenziale che potrebbe risolversi con un effetto batteriostatico o battericida differente.

Sempre al fine di uniformare le metodiche e individuare parametri di riferimento comuni, Paul Belaiche ideò un "indice aromatico", attraverso il quale indicare il potere battericida di un dato olio essenziale relativamente ad uno "ideale". Tale indice si ottiene attraverso calcoli non del tutto immediati rapportando l'alone di inibizione dell'olio essenziale in esame espresso in mm, al nominatore, e quello di un olio essenziale "ideale" con elevato potere battericida, al denominatore. L'indice aromatico (secondo Belaiche) consente quindi al medico di poter individuare il potere germicida di un olio essenziale nei confronti di un germe, e tanto più l'indice aromatico ha valori prossimi ad 1 quanto più il suo potere battericida sarà elevato e prossimo a quello dell'olio essenziale "ideale" (9). L'olio essenziale di *Origanum vulgare* è tra gli oli essenziali noti quello ad oggi ancora più potente, presentando un indice aromatico prossimo al valore 1 (precisamente 0,87), e, proprio per questa caratteristica, l'indice aromatico viene anche indicato come "indice di origano".

Altri autori, tra cui Paul Belaiche, basandosi sulla sperimentazione di Allegrini hanno indentificato in un test quantitativo in fase liquida, il sistema più indaginoso ma certamente più affidabile per ottenere valori quantitativi di MIC e minime concentrazioni battericide (*Minimum Bactericidal Concentration*, MBC). Oggi, il test di diluizione in brodo, eseguito secondo linee guida internazionali, è considerato il test di riferimento per lo studio della sensibilità microbica verso un dato agente antimicrobico e, se eseguito con gli oli essenziali, rende i dati ottenuti dal test paragonabili a quelli ottenuti dagli antibiogrammi eseguiti con gli antibiotici di sintesi.

Il metodo di diluizione in brodo è un test di suscettibilità in cui una concentrazione standard dell'agente patogeno è messa a contatto, in terreno di coltura liquido, con diluizioni scalari (generalmente a raddoppio) di un agente antimicrobico. Quando il test di brodo diluizione è eseguito in micropiastre con pozzetti di capacità inferiore a $300\ \mu\text{L}$ /pozzetto è denominato "test di microdiluizione in brodo".

Anche per questi test l'EUCAST ha individuato e descritto il metodo nei minimi dettagli sia per l'applicazione del test a ceppi batterici (10) che a ceppi fungini (11-13).

Il test che maggiormente si presta per l'automazione e l'esecuzione in un laboratorio di analisi è il test di microdiluizione in brodo. Questo test prevede l'uso di brodo liquido MH per lo studio della sensibilità batterica e di brodo liquido RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) per lo studio della sensibilità di ceppi fungini.

Anche in questo caso per miscelare una fase idrofoba (olio essenziale) in una idrofila (brodo di coltura) è necessario usare un tensioattivo come veicolo che, nella nostra esperienza è da individuare nel Tween 80 alla concentrazione di 0,001% v/v (14).

Passato il tempo di incubazione sarà possibile individuare la diluizione dell'olio essenziale corrispondente alla MIC intesa come la concentrazione più bassa alla quale non si osserverà crescita batterica attraverso la lettura della piastra a 96 pozzetti visuale e spettrofotometrica con lettore di micropiastre.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



Infine, per valutare se la MIC corrisponde anche alla MBC si procede seminando il contenuto dei pozzetti, senza crescita visibile, su agar nutritivo e incubando il tutto a 35 ± 1 °C per ulteriori 24 ore. Trascorso il tempo di incubazione sarà possibile valutare la MBC individuando la diluizione più bassa alla quale non si osserva crescita batterica, a questa diluizione corrisponderà la minima concentrazione dell'olio essenziale in grado di esercitare un'azione battericida.

Il test di microdiluizione in brodo è facilmente riproducibile se ripetuto con lo stesso germe, con lo stesso olio essenziale e se effettuato nelle stesse condizioni sperimentali. È possibile per eliminare la variabilità dovuta alla manualità dell'operatore e quindi per una maggiore riproducibilità della sperimentazione anche la congelazione delle micropiastre, contenenti le diluizioni scalari dell'olio essenziale, che si possono conservare in tal modo (a -80°C) per almeno un anno.

È però importante ricordare che le dosi degli oli essenziali ammesse per trattamenti *per os* raggiungono una concentrazione ematica che è sempre nettamente inferiore alle concentrazioni minime inibenti rilevate *in vitro* e che comunque, essendo gli oli essenziali estremamente dannosi se ingeriti ad alte dosi, diventa necessario per l'operatore individuare la minima concentrazione *in vitro*, che sia contestualmente efficace, sicura e non tossica *in vivo*. Quindi per questi ultimi aspetti è necessario considerare anche gli studi relativi alla farmacocinetica e

alla farmacodinamica dei singoli oli essenziali, dati quest'ultimi, ad oggi ancora non ben delineati.

Bibliografia

1. Firenzuoli F (Ed.). *Gli oli essenziali. Dai profumi all'aromaterapia*. Milano: Tecniche Nuove. 2002.
2. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Antimicrobial Susceptibility Testing—EUCAST Disc Diffusion Method: Version 2.1*. Växjö, Sweden: EUCAST; 2012.
3. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Reading guide. EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing. Version 3.0*. Växjö, Sweden: EUCAST; 2013.
4. Matuschek E, Brown DF J, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: O255–O266.
5. Camporese A (Ed.). *Oli essenziali e malattie infettive. Terapia antimicrobica ragionata con gli oli essenziali*. Milano: Tecniche Nuove; 1998.
6. Duraffourd C, Lapraz JC, Valnet J (Ed.). *Cura delle malattie con piante e aromi*. Firenze-Milano: Giunti Editore; 2004.
7. Park CM, Taormina PJ, Beuchat LR. Efficacy of allyl isothiocyanate in killing enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Int J Food Microbiol* 2000;56(1):13-20.
8. Mondello F, Girolamo A, Scaturro M, Ricci ML. Determination of *Legionella pneumophila* susceptibility to *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil by an improved broth micro-dilution method under vapour controlled conditions. *J Microbiol Methods* 2009;77(2):243-8.
9. Campanini E (Ed.). *Ricettario medico di fitoterapia*. Milano: Tecniche Nuove. 2005.
10. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection* 2003;9:1-7.
11. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), Rodríguez-Tudela JL, Barchiesi F, Bille J, Chryssanthou E, Cuenca-Estrella M, Denning D, Donnelly JP, Dupont B, Fegeler W, Moore C, Richardson M, Verweij PE. Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. *Clinical Microbiology and Infection* 2003;9:1-8.
12. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST Definitive Document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts *Clin Microbiol Infect* 2008;14:398-405.
13. Arendrup MC, Cuenca-Estrella M, Lass-Flörl C, Hope W and the EUCAST-AFST. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCASTAFST). *Clin Microbiol Infect* 2012; 8:E246-E247.

14. Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. *In vivo* activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic *Candida* species. *BMC Infect Dis* 2006;6:158.

Variabilità nel profilo terpenico e caratterizzazione di chemotipi di pregio

Le capacità adattative in popolamenti di specie forestali dipendono dal livello di variabilità genetica e dai meccanismi coinvolti nel mantenimento e nella distribuzione di questa diversità intesa come potenziale evolutivo. In base alle indagini più recenti appare sempre più evidente il rapporto tra eterozigosi e valenza ecologica. Per quanto riguarda studi di biochimica sistematica, esistono numerose indagini sulla variabilità genetica nel contenuto di terpeni in alberi forestali.

Il profilo terpenico risulta sotto forte controllo genetico e valori elevati di ereditabilità sono stati riportati per diversi monoterpeni in numerose specie forestali. L'esistenza di variabilità nel contenuto di terpeni tra specie, popolazioni appartenenti alla stessa specie, individui all'interno del singolo popolamento, ibridi e cloni offre notevoli opportunità per la caratterizzazione di chemotipi meno sensibili alle fitopatie e con caratteristiche di pregio per l'industria e l'agricoltura. È sempre maggiore in questi ultimi anni l'interesse verso le potenzialità di utilizzo di metaboliti secondari da parte dell'industria farmaceutica sempre alla ricerca di nuovi antibiotici e di molecole con proprietà anticancerogena. Inoltre, è sempre più sentita l'esigenza di salvaguardare l'ambiente che ci circonda riducendo l'apporto di sostanze chimiche inquinanti (1).

L'allarme suscitato dall'impiego indiscriminato di prodotti di sintesi in agricoltura, nell'industria alimentare e in altri settori, ha portato alla riscoperta dell'uso di metaboliti secondari isolati da tessuti vegetali e, in particolare, di composti volatili costituenti di oli essenziali e resine, per la produzione di aromi, conservanti, erbicidi, fitofarmaci e articoli di cosmesi (2).

Bibliografia

1. Flamini G. Natural herbicides as a safer and more environmentally friendly approach to weed control: a reviewer of the literature since 2000. *Stud Nat Prod Chem* 2012;38:353-96.
2. Zwenger S, Basu C. Plant terpenoids: applications and future potentials. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews* 2008;3(1):001-007.

PROFILO FITOCHIMICO DEGLI OLI ESSENZIALI

Stefania Benvenuti

Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena

L'avvento delle angiosperme (140 milioni di anni fa) e relativa differenziazione (100 milioni di anni fa) porta, oltre a diverse modalità riproduttive, alla formazione di composti chimici di difesa o di comunicazione. Le piante hanno dovuto utilizzare difese statiche per dissuadere erbivori e per difendersi dall'attacco di batteri, virus e funghi, ma la coevoluzione portò ad un miglioramento degli strumenti degli animali per cibarsi e per attaccare le piante e quindi, la risposta evolutiva vegetale fu la biosintesi di sostanze sempre più complesse e tossiche.

Nella pianta queste sostanze non giocano un ruolo primario, ma sono generate da processi metabolici secondari specifici di ogni famiglia, genere, specie, in passato considerate anche prodotti di scarto. Già le gimnosperme (conifere) iniziarono a sintetizzare e depositare sostanze in specifici tessuti secretori; ma solo con le angiosperme si arrivò ad una grande diversificazione produttiva (1).

Attualmente si è arrivati a riconoscere migliaia di composti di origine vegetale che hanno questo ruolo "secondario", ossia differente rispetto ai metaboliti primari, ma non meno importante. Lo studio e la tracciabilità di queste molecole (metabolomica) permette di stabilire il profilo fitochimico (*fingerprinting*) di ogni pianta, frutto dell'interazione con l'ambiente e dei meccanismi biochimici messi in atto per la loro sintesi.

Gli oli essenziali sono appunto una miscela di metaboliti secondari con caratteristiche chimiche e fisiche comuni, prodotti dalla pianta in risposta a fattori ecologici e patogeni.

La composizione chimica degli oli essenziali può variare anche all'interno delle sottovarietà, cultivar, ibridi, cloni; soprattutto fra le piante spontanee in cui la variabilità genetica è più intensa, si assiste ad una coevoluzione che permette solo ad alcune piante, con lievi differenziazioni genetiche, di sopravvivere. Ecco che non basta la denominazione dell'olio essenziale riferita a genere, specie, varietà, ecc., ma è necessario specificare spesso il chemiotipo che ne individua il componente prioritario.

In genere gli oli essenziali sono costituiti da 2 o 3 componenti, presenti in concentrazione relativamente alta (20-95%), e altri presenti in quantità minori o addirittura in tracce. L'aroma è dato dalla combinazione di tutti i componenti e, anche quelli presenti in concentrazioni minime, giocano un ruolo fondamentale nel determinare le proprietà organolettiche e fitoterapiche.

I costituenti degli oli essenziali sono chiamati "terpeni" e la loro unità monomerică è chiamata "isoprenica" in relazione all'isoprene a struttura dienica C₅ (2, 3). I terpeni hanno formula molecolare che corrisponde a multipli dell'isoprene (unite in modo testa-coda), insieme a frammenti alcolici, fenolici e chetonici (terpenoidi). Solo alcuni derivano da semplice riarrangiamento testa-coda, ma la maggior parte dei terpenoidi presentano ulteriori modificazioni in seguito a reazioni di ciclizzazione, o addirittura presentano piccoli frammenti terpenoidici legati a scheletri carboniosi diversi (alcaloidi, fenoli, ecc.).

I composti derivati sono chiamati: emiterpeni C₅, monoterpeni C₁₀, sesquiterpeni C₁₅, diterpeni C₂₀, sesterterpeni C₂₅, triterpeni C₃₀ e tetraterpeni C₄₀. Polimeri superiori si ritrovano in materiali come la gomma.

Per quanto riguarda la via metabolica di origine l'unità fondamentale (isoprene) viene prodotta a partire da tre unità di acetato che, grazie ad una serie di condensazioni che dapprima generano acido mevalonico, producono isopentenilpirofosfato, forma attivata dell'isoprene.

Nella successiva biosintesi si ha condensazione di due molecole di isopentenilpirofosfato che danno origine a trans-geranil pirofosfato. Questo può condensare ulteriormente con una molecola di isopentenil pirofosfato formando farnesil pirofosfato da cui possono formarsi sesquiterpeni.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



I pirofosfati C10, C15, C20 sono i diretti precursori di mono, sesqui e diterpeni. La biosintesi dei diversi terpeni coinvolge anche reazioni di spostamenti, addizione di acqua o di amine, deidrogenazione e introduzione di funzioni ossigenate. I processi di ossidazione possono implicare decarbossilazione o altre scissione ossidative con perdita di altri atomi di C. Tutto ciò dà luogo a considerevoli variazioni nei tipi di strutture così come nei gruppi funzionali.

I componenti degli oli essenziali hanno basso peso molecolare, sono volatili, estraibili in corrente di vapore e lipofili per cui appartengono alla classe dei monoterpeni (C10), sesquiterpeni (C15) e loro derivati ossigenati. La presenza di molecole a più alto peso molecolare in estratti di origine vegetale, indica l'utilizzo di un'altra tecnica di separazione diversa dalla distillazione in corrente di vapore o dalla spremitura; il prodotto quindi non rispetta la definizione di olio essenziale.

Alcuni componenti degli oli essenziali sono prodotti da un'altra via metabolica secondaria, la via dell'acido shikimico: questa porta alla formazione di alcuni aminoacidi aromatici quali la fenilalanina e tirosina, dai quali si ottengono derivati dell'acido cinnamico che sono precursori di fenilpropanoidi, quali ad esempio eugenolo, anetolo, estragolo presenti in alcuni oli essenziali (3). Anche in questo caso comunque i derivati hanno caratteristiche fisiche comuni ai terpeni.

I monoterpeni che costituiscono i componenti principali degli oli essenziali possono essere classificati in base ai gruppi funzionali e per il loro grado di ossidazione in: idrocarburi aliciclici (es. mircene, ocimene, fellandrene) e ciclici (es. limonene, α - e il β -pinene, *p*-cimene), alcoli (es. geraniolo, nerolo, linalolo, lavandulolo, citronellolo, mentolo, borneolo, terpineolo), aldeidi (es. geraniale e citronellale), chetoni (es. mentone, carvone, canfora), fenoli (es. timolo, carvacrolo), ossidi (es. eucaliptolo), esteri (es. linalilacetato). I sesquiterpeni C15 hanno una struttura piuttosto complessa e sono costituiti da uno o più cicli generati dalla diversa ciclizzazione del farnesil pirofosfato. Le strutture anulari che ne derivano sono numerosissime e sono spesso peculiari di alcune specie.

La ricchezza in alcune componenti piuttosto che altre non sempre corrisponde a ciò che la pianta sintetizza: infatti ciò che viene prodotto dai tessuti secretori, non equivale a ciò che viene distillato in corrente di vapore; il processo estrattivo infatti seleziona i composti più bassobollenti e può generare artefatti non presenti nel metabolismo vegetale. Da ciò emerge la effettiva incertezza ad ipotizzare un ruolo biologico di una miscela magari nemmeno realmente rappresentata nel tessuto vegetale.

La fitoterapia, la cosmetica e l'industria alimentare fanno comunque largo uso degli oli essenziali e sono proprio i loro costituenti che ne suggeriscono l'impiego. Da ciò nasce la necessità non solo della caratterizzazione del profilo fitochimico, ma del dosaggio, con tecniche analitiche idonee, dei costituenti presenti.

Bibliografia

1. Valussi M. *Il grande manuale dell'aromaterapia, Fondamenti di scienza degli oli essenziali*. Milano: Tecniche Nuove; 2013.
2. Ruzicka L. The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Experientia* 1953;10:357-67.
3. Manitto P. *Biosynthesis of natural products*. Daryaganj: Ellis Horwood Ltd; 1981.

Attività antimicrobica

Gli oli essenziali sono complesse miscele di sostanze organiche estratte da piante aromatiche mediante distillazione in corrente di vapore o spremitura, costituite prevalentemente da terpeni (biomolecole derivanti dalla ripetizione di catene idrocarburiche isopreniche).

Sono liquidi infiammabili, volatili a temperatura ambiente, oleosi, solubili negli oli, negli alcoli e nei solventi organici.

L'attività antimicrobica, valutata *in vitro* sia in forma liquida che gassosa, varia da un microrganismo all'altro e da un olio essenziale all'altro, ma è sempre dose-dipendente. È strettamente connessa alla composizione chimica e alla concentrazione dei loro costituenti, che non dipendono solo dalla specie, ma anche da altri fattori come la provenienza della pianta, la parte usata, lo stadio di sviluppo, le condizioni di crescita (temperatura, terreno, fertilizzanti, ecc.), la distillazione e le condizioni di conservazione.

È importante quindi prendere atto che per i suddetti motivi vi sarà una variabilità chimica ad ogni distillazione per cui si dovranno sempre effettuare delle metodiche di analisi chimica (gascromatografia, spettrometria di massa, rotazione ottica, indice di rifrazione, test agli infrarossi, ecc.), necessarie per attestare il rispetto degli standard richiesti, che saranno valide solo per il lotto preso in considerazione.

L'attività antimicrobica negli oli essenziali, oltre a dipendere dalla composizione chimica, è anche direttamente proporzionale alla tossicità (basso indice terapeutico) per cui è necessario avere una minima concentrazione inibente (*Minimum Inhibitory Concentration*, MIC) ottimale più bassa possibile per evitare effetti collaterali (1).

Per valutare l'attività antimicrobica degli oli essenziali in genere vengono utilizzati i metodi convenzionali utilizzati per testare gli antibiotici con tutte le caratteristiche di standardizzazione, ripetibilità e qualità del risultato richieste dagli organismi internazionali di controllo, quali EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) e CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*).

Le proprietà specifiche degli oli essenziali (quali volatilità, insolubilità, viscosità) richiedono però delle modificazioni dei suddetti metodi, perché si potrebbe avere una distribuzione non omogenea dell'olio, anche utilizzando un appropriato solubilizzante che deve essere inerte nei confronti del microrganismo testato.

Queste complesse miscele di sostanze volatili, potrebbero evaporare o decomporsi durante una lunga incubazione che deve quindi essere monitorata in tal senso. Altri fattori importanti che possono influenzare la valutazione dell'attività antimicrobica degli oli essenziali sono anche l'inoculo, il terreno di coltura, la temperatura, le condizioni di crescita in aerobiosi o anaerobiosi, il tipo di solubilizzante (tween, DMSO, etanolo, agar), l'eventuale uso di sigillanti.

Ad oggi, per tali motivi, manca ancora una standardizzazione delle metodiche.

In letteratura molti studi scientifici, principalmente *in vitro*, sono stati condotti con oli essenziali e componenti estratti da piante Lamiaceae, nei confronti di *S. aureus*, batterio patogeno ad elevato grado di morbilità e mortalità, sia in ospedale che in ambito comunitario, e nei confronti del patogeno fungino umano opportunisto *Candida*, responsabile di patologie mucocutanee e in alcuni casi di gravi infezioni sistemiche, soprattutto in pazienti immunocompromessi nosocomiali.

La maggior parte degli oli essenziali studiati – isolati da Lamiaceae, tra cui *Lavandula* sp., *Thymus vulgaris* e *Zataria multiflora* – ha mostrato una notevole attività nei confronti di ceppi di MRSA, soprattutto *T. vulgaris* e *Z. multiflora*. Entrambi questi due oli essenziali presentano un'alta percentuale di timolo, monoterpene fenolico, il quale sembra abbia un ruolo importante nell'inibire la crescita di MRSA. Gli oli essenziali testati in combinazione con un agente antimicrobico di sintesi o con altri oli essenziali hanno mostrato effetti sinergici contro MRSA, in molti casi con una riduzione sostanziale della MIC, come ad esempio per l'olio essenziale di *Z. multiflora* in combinazione con vancomicina, o per l'olio essenziale di *Lavandula luisieri* in combinazione con l'olio essenziale di *L. angustifolia* o l'olio essenziale di *L. stoechas*.

Diversi componenti estratti dagli oli essenziali di *Origanum vulgare*, *Origanum dictamnus*, *Mentha piperita*, *Lavandula hybrida*, *Z. multiflora*, *T. vulgaris* sono stati testati contro *S. aureus*, e tutti hanno mostrato

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



un'evidente attività inibitoria. Il carvacrolo, monoterpene fenolico presente nell'olio essenziale di origano e di timo, ha effetti specifici su *S. aureus* e *S. epidermidis* agendo sulla vitalità del biofilm e sulla morfologia delle cellule sessili. È noto come la formazione di biofilm sia uno dei meccanismi patogenetici coinvolti nelle infezioni correlate all'uso di dispositivi medici e sia anche responsabile della resistenza antimicrobica.

Recenti studi hanno valutato l'azione di oli essenziali nei confronti di fattori virulenza secreti o correlati alla parete cellulare. Diverse concentrazioni di oli essenziali di *Perilla frutescens* (Lamiaceae) sopprimono l'espressione dell' α -tossina, dell'enterotossina A e B di *Staphylococcus* e della tossina della sindrome da shock tossico di *S. aureus* sia meticillinosensibile che meticillino-resistente. Inoltre sono risultati attivi contro MRSA anche gli oli essenziali della famiglia Myrtaceae (*Cleistocalix operculatus*, *Eucalyptus globulus*, *Melaleuca alternifolia* Cheel) composte principalmente da monoterpene monociclici (es. 1,8-cineolo e terpinene-4-olo). Studi *in vitro*, hanno dimostrato che il singolo componente terpinene-4-olo (T-4-olo) presenta un'attività batteriostatica e battericida molto più forte rispetto a quella dell'olio essenziale di *M. alternifolia* (*Tea Tree Oil*, TTO) nei confronti di stafilococchi coagulasi negativi e MRSA.

Gli oli essenziali studiati, isolati da Lamiaceae, come *Z. multiflora*, *Ocimum sanctum*, *O. vulgare*, *O. majorana*, *M. piperita*, *Mentha suaveolens* con i loro componenti principali, oltre ad avere attività antibatterica, hanno mostrato anche notevole attività antifungina, in particolare anti-*Candida*. Tutti sono caratterizzati da un elevato contenuto di timolo, carvacrolo, cimene, linalolo o α -pinene. In particolare, timolo, carvacrolo e geraniolo sono anche in grado di inibire lo sviluppo della formazione del biofilm in *Candida*.

Giordani R. ha confrontato l'effetto anti-*Candida* di diversi tipi di *Thymus*, *O. majorana* e *R. officinalis* raccolti in Algeria. È il primo studio in cui viene dimostrata l'elevata attività dell'olio essenziale di *Thymus numidicus* (Lamiaceae) contro la *Candida* con una MIC 1357 volte superiore rispetto alla MIC di amfotericina. Il componente principale di questo olio essenziale è stato identificato nel timolo (2).

Molti studi sono stati effettuati sulla sinergia tra gli oli essenziali o i componenti e gli antibiotici convenzionali. In ogni caso, poiché i risultati variano in base al microrganismo, all'antibiotico e all'olio essenziale che vengono presi in considerazione, la combinazione di oli essenziali con i farmaci sintetici deve essere sempre attentamente considerata. Per esempio, nei confronti di *Candida* l'olio essenziale di *Pelargonium graveolens* ha dimostrato sinergia in combinazione con amfotericina B, mentre quelli di *M. piperita*, di *T. vulgaris* e di *R. officinalis* hanno mostrato effetti antagonisti (3).

Meccanismo di azione

Il meccanismo di azione degli oli essenziali nei riguardi dei microrganismi è complesso e ancora non è stato ben chiarito perché dipende da vari fattori: 1) dal tipo di potenza antimicrobica dei vari oli essenziali che a sua volta dipende dalla loro composizione chimica e quindi dalle loro caratteristiche prevalentemente idrofile o lipofile; 2) dal tipo di microrganismi med è principalmente collegato alla struttura della loro parete cellulare. A causa della variabilità delle quantità e dei componenti degli oli essenziali, è molto probabile che la loro attività antimicrobica non sia dovuta ad un unico meccanismo, ma a diverse modalità di azione a livello cellulare. L'idrofobicità consente agli oli essenziali di ripartirsi tra i lipidi della membrana cellulare batterica o fungina e mitocondriale, alterando le strutture cellulari e rendendole così più permeabili. Le perdite eccessive di ioni e molecole dalla cellula microbica condurranno poi inevitabilmente alla morte. Alcuni oli essenziali modulano la farmaco resistenza in diversi batteri Gram negativi minando i meccanismi di efflusso (4). I batteri Gram positivi in molti studi risultano più sensibili agli oli essenziali rispetto ai batteri Gram negativi.

L'azione degli oli essenziali verso i batteri Gram positivi e funghi sembra essere simile.

Segni visibili della loro azione contro i lieviti, i dermatofiti e altri funghi filamentosi possono essere osservati con cambiamenti morfologici e funzionali micro e macroscopici. La maggior parte degli studi sul meccanismo di azione antifungina degli oli essenziali sono stati condotti su *Candida albicans*, il maggiore patogeno fungino

umano. Gli oli essenziali sembrano agire prevalentemente con cambiamenti strutturali e funzionali delle membrane fungine, portando alla dispersione del citoplasma e alla morte cellulare. Si assiste quindi ad un blocco della sintesi delle membrane, inibizione della germinazione, riproduzione e respirazione cellulare. Gli studi principali si sono focalizzati molto sul meccanismo di azione del TTO, dimostrando l'alterazione della permeabilità delle cellule dei lieviti.

Studi clinici

Nei pochi casi in cui sono stati effettuati degli studi clinici i dati sono promettenti, ma non ancora esaustivi. Inoltre la maggior parte degli studi è stata effettuata utilizzando il TTO.

Precedenti studi clinici effettuati per convalidare l'efficacia clinica degli oli essenziali non sono stati considerati scientificamente validi dagli standard oggi in uso, perché in molti casi non sono stati condotti in condizioni controllate.

Sebbene alcuni di questi dati clinici indichino che molti oli essenziali possano essere efficaci come agenti terapeutici, sono necessari altri rigorosi studi clinici che dovranno considerare fattori come: la concentrazione finale ottimale dell'olio, la formulazione del prodotto, la durata e la frequenza del trattamento, eventuali effetti avversi che possono influenzare l'efficacia farmacologica, gli eventuali effetti tossici, e il costo-efficacia del potenziale trattamento terapeutico con gli oli essenziali.

Conclusioni e prospettive future

Gli oli essenziali potrebbero costituire una possibile integrazione e, in alcuni casi estremi, un'alternativa all'antibiotico-terapia, in particolare nei casi refrattari alla terapia convenzionale.

Infatti oltre a dimostrare una notevole attività antimicrobica, possiedono proprietà biologiche e terapeutiche multifunzionali (antinfiammatorie, immunomodulanti, ecc.).

I dati sperimentali in letteratura danno un sostanziale supporto a precedenti evidenze empiriche e scientifiche sull'efficacia antimicrobica *in vitro* degli oli essenziali, anche nei confronti di specie microbiche farmaco-resistenti. Sperimentalmente è stato confermato anche che i principali componenti degli oli essenziali generalmente rappresentano il prodotto attivo della mistura. Presumibilmente, sarà più difficile per i batteri sviluppare resistenza verso le misture degli oli essenziali, costituite da numerose entità molecolari, piuttosto che rispetto ai singoli antibiotici generalmente costituiti da una singola molecola.

L'uso topico a livello cutaneo e mucosale potrebbe costituire la strategia più promettente al momento e l'attività dimostrata degli oli essenziali come potenzianti la penetrazione cutanea degli antisettici potrebbe essere applicata per prevenire le infezioni, anche farmacoresistenti, che si riscontrano in chirurgia e con l'uso di dispositivi medici.

Gli studi preclinici dimostrano l'elevata attività antifungina degli oli essenziali verso *C. albicans* in modelli di infezione sperimentale mucosale e sistemica murina, anche con l'uso di ceppi fungini resistenti. Tali indagini costituiscono un valido supporto sperimentale preclinico per studi di sicurezza d'uso e di efficacia. Ulteriori studi anche sul ruolo sinergistico con oli essenziali e con farmaci potrebbero anche essere utili per migliorare l'indice terapeutico di alcuni farmaci, come quelli antifungini, attualmente tossici per l'ospite alle dosi impiegate.

Purtroppo, ad oggi, gli studi clinici con gli oli essenziali sono scarsi e metodologicamente carenti, e inoltre sono poche le informazioni ottenute circa la sicurezza d'uso degli oli essenziali per via orale. Per l'eventuale uso clinico ci sono ancora molti problemi da affrontare quali la necessità di standardizzazione dei metodi di estrazione, dei criteri di qualità dell'olio essenziale testato e delle metodiche *in vitro*, in modo che la ricerca possa essere più sistematica e l'interpretazione dei risultati più facilitata. Sono necessarie inoltre ulteriori

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



conferme scientifiche (studi pre-clinici, clinici, farmacocinetici, farmacodinamici, di tossicità) delle evidenze empiriche terapeutiche provenienti dalla tradizione clinica.

Bibliografia

1. Camporese A. *Oli essenziali e malattie infettive. Terapia antimicrobica ragionata con gli oli essenziali*. Milano: Tecniche Nuove (Ed). 1998
2. Giordani R, Hadeif Y, Kaloustian J. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 2008;79(3):199-203.
3. Bassolé IH, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 2012;17(4):3989-4006.
4. Lorenzi V, Muselli A, Bernardini AF, Berti L, Pagès JM, Amaral L, Bolla JM. Geraniol restores antibiotic activities against multidrug-resistant isolates from gram-negative species. *J Antimicrob Chemother* 2009; 53(5):2209-11.



SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



www.senecaair.com



info@senecaair.com

ATTIVITÀ ANTIMICROBICA DELL'OLIO ESSENZIALE DI *MYRTUS COMMUNIS* SU *MYCOBACTERIUM* SPP.

Stefania Zanetti, Paola Molicotti, Sara Cannas
Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari

Il mirto (*Myrtus communis*) è una sclerofilla che cresce spontaneamente nella macchia mediterranea. Possiede una notevole plasticità ecologica per la sua capacità di crescere e svilupparsi nelle aree costiere e sub-costiere, sino ad ambienti interni umidi e freddi. In Sardegna la sua abbondanza è sfruttata per la produzione di liquori, dalle riconosciute proprietà digestive, ottenuti dalla macerazione delle bacche e delle foglie. In campo cosmetico, per le sue proprietà toniche e antisettiche, l'essenza ricavata dai fiori è utilizzata per la preparazione di creme e detergenti.

Nella tradizione popolare si ritiene che il mirto favorisca la digestione ed espliciti attraverso un'azione immunomodulante, una funzione antinfiammatoria, nelle cistiti, gengiviti e nelle emorroidi, ed il decotto delle foglie inoltre è un valido rimedio contro l'infiammazione delle vie respiratorie. Solo recentemente è stata valutata l'attività antimicrobica (1) dell'olio essenziale di *M. communis* nei confronti di batteri Gram-positivi e Gram-negativi e sui lieviti e i risultati ottenuti hanno mostrato una buona efficacia nei confronti di questi due ultimi microrganismi.

In questo studio abbiamo analizzato la sua attività nei confronti dell'agente eziologico della tubercolosi: il *Mycobacterium tuberculosis* e nei confronti di Micobatteri Non Tubercolari (MNT) di isolamento clinico. Questi microrganismi sono caratterizzati da acido-alcol resistenza, da una parete ricca di acidi micolici e da una lenta replicazione (24-48 h).

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), ogni anno 2 milioni di persone muoiono a causa di questa malattia e 9 milioni si ammalano (2). I tassi di incidenza sono più elevati nei Paesi in via di sviluppo (Africa sub sahariana, Sud Est asiatico, India), e nell'Europa dell'est. L'Italia è considerata un Paese a bassa incidenza con meno di 10 casi/100.000 abitanti l'anno. La diffusione di questo microrganismo è legata essenzialmente ad una trasmissione prevalentemente aerogena, ed è aggravata dalla circolazione di ceppi *Multi Drug-Resistant Tuberculosis* (TB-MDR) e *eXtensively Drug-Resistant Tuberculosis* (TB-XDR), difficilmente curabili con la terapia antitubercolare prevista dalle linee guida internazionali (3).

La terapia, sostanzialmente costituita da pochi farmaci, il più recente dei quali risale agli anni 50, prevede l'assunzione contemporanea di 3 o 4 farmaci per un periodo minimo di 6 mesi.

In questo lavoro l'olio essenziale, estratto con idrodistillazione Clavenger dalle foglie di mirto e successivamente analizzato con gas cromatografia di massa, per determinarne la composizione chimica, è stato utilizzato per valutare la sua attività antimicrobica nei confronti di ceppi ATCC (*American Type Culture Collection*) di *M. tuberculosis*, di ceppi clinici resistenti a uno o più farmaci antitubercolari e nei confronti di isolati di MNT. Sono stati inoltre saggiati i singoli composti dell'olio essenziale per valutare la loro efficacia rispetto all'olio essenziale in toto, così come è stata studiata la sua tossicità nei confronti della linea cellulare J774 (macrofagi murini).

Materiali e metodi

In questo studio l'estrazione dell'olio essenziale di *M. communis* dalle foglie è stata ottenuta attraverso il metodo della idrodistillazione (HD) con un apparato di tipo Clavenger, in accordo con la Farmacopea Europea. La composizione dell'olio essenziale è stata analizzata attraverso la gas cromatografia/spettrometria di massa (*Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, GC/MS).

Le foglie di *M. communis* sono state collezionate nella primavera del 2010 a Domus de Maria, località del sud della Sardegna. L'attività antimicrobica è stata saggiata con il *Resazurin Microtiter Assay* (REMA).

Idrodistillazione

L'idrodistillazione è stata effettuata in un apparato circolare di Clevenger, fino al completo esaurimento dell'olio contenuto nella matrice, in accordo con la procedura descritta dalla Farmacopea Europea (4).

GC e GC/MS

L'analisi della frazione volatile dell'olio è stata effettuata attraverso la GC e GC-MS. L'identità dei componenti è stata assegnata attraverso il confronto dello spettro di massa e gli indici di ritenzione, per due differenti fasi stazionarie cromatografiche, calcolate attraverso interpolazione lineare per la conservazione di una serie di n-alcani. I dati ottenuti sono stati comparati con i dati presenti in letteratura di oli di riferimento e standard commerciali (5, 6). Le percentuali dei componenti individuali sono stati calcolati, sulla base dei picchi dell'area di GC senza la correzione del fattore di risposta FID (*Flame Ionization Detector*, rilevatore a ionizzazione di fiamma) (Tabella 1).

Tabella 1. Composizione chimica dell'olio essenziale di *Myrtus communis*

Tempo di ritenzione (minuti)	Indice di ritenzione Kovats	Olio essenziale di <i>M. communis</i> (%)	Componenti
5,17	927	0,5	triciclene
5,38	939	39,8	α-pinene
4,72	960	0,8	thuja-2,4(10)-diene
7,88	1025	2,3	para-cymene
8,03	1029	10,7	limonene
8,13	1031	24,8	1,8-cineolo
9,03	1060	0,8	γ -terpinene
10,09	1089	0,8	terpinolene
10,52	1097	6,4	linalolo
14,10	1189	2,6	α -terpineolo
16,86	1257	5,4	linalolo acetato
20,73	1300	1,0	terpin-4-olo acetato
22,20	1381	2,8	geranil acetato
23,04	1404	1,2	metil eugenolo

In grassetto i principali componenti chimici del *M. communis*

Ceppi batterici saggiati

L'olio essenziale di *M. communis* è stato saggiato su 2 ceppi ATCC (H37Rv e H37Ra) e 14 isolati clinici di *M. tuberculosis*. I due ceppi ATCC e 2 dei 14 isolati clinici sono risultati sensibili a tutti i farmaci di prima linea: Streptomina, Isoniazide, Rifampicina e Etambutolo (SIRE). I restanti (12) isolati clinici sono risultati resistenti a un farmaco (5 isolati), a due farmaci (6 isolati) e a tre farmaci (1 isolato), tutti appartenenti agli antitubercolari di prima scelta, SIRE. In particolare 3 di essi sono risultati *Multi Drug Resistant* (MDR), resistenti a Isoniazide e Rifampicina, capisaldi della terapia antitubercolare.

L'attività dell'olio essenziale è stata inoltre saggiata su 10 isolati clinici di MNT: *M. intracellulare*, *M. simiae*, *M. gordonae*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. phlei*, *M. abscessus*, *M. avium*, *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*.

REMA: test di sensibilità per *M. tuberculosis* e MNT

Il REMA è un test colorimetrico che attraverso una reazione di ossido riduzione rileva la vitalità cellulare. Il saggio utilizza l'indicatore resazurina, che aggiunto dopo l'esposizione del microrganismo a diverse concentrazioni di farmaco, vira dal blu al rosa, in modo direttamente proporzionale al numero di micobatteri vitali, presenti nel terreno di coltura. È stata considerata la MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), la minore concentrazione di antimicrobico che ha impedito il viraggio del colore. Tutti i valori di MIC ottenuti con i farmaci antitubercolari e con l'olio essenziale di *M. communis*, sono stati infine confrontati, con quelli

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



ottenuti con il metodo proporzionale e con il Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson) (7, 8). In ogni reazione è stato aggiunto un controllo positivo e uno negativo.

Saggio di citotossicità

Per il saggio di tossicità è stato utilizzato il saggio colorimetrico MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Il bromuro di 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio è un sale che è convertito in formazano, soluzione insolubile porpora (cellule vitali), dalle deidrogenasi mitocondriali, per rottura dell'anello di tetrazolio. Per il test, l'olio essenziale di *M. communis* a concentrazioni scalari [16-0,0005%(v/v)] è stato messo a contatto (30 minuti) con la linea cellulare J774 (macrofagi murini); infine l'aggiunta dell'isopropanolo, che solubilizza il formazano eventualmente formatosi, consente la lettura in spettrofotometria ad una lunghezza d'onda di 570 nm.

Risultati e conclusioni

I dati ottenuti in questo lavoro preliminare hanno evidenziato l'azione antibatterica dell'olio essenziale [MIC di 0,17 % (v/v)] nei confronti dei due ceppi ATCC (H37Rv e H37Ra) e di 14 isolati clinici di *M. tuberculosis*, 12 dei quali resistenti ad uno o più antitubercolari ed in particolare 3 erano ceppi MDR (Tabella 2). È stata inoltre valutata l'azione delle principali frazioni dell'olio essenziale di *M. communis*, limonene, 1-8 cineolo, alfa-pinene, nei confronti dei due ceppi ATCC e nei confronti dei 14 isolati clinici.

I risultati (Tabella 3) ottenuti, dimostrano una buona attività del limonene e dell'1-8-cineolo, il primo su tutti i ceppi di *M. tuberculosis* saggiati, il secondo oltre agli ATCC anche nei confronti di 8 isolati clinici [MIC di 2% (v/v)].

Tabella 2. MIC dell'olio essenziale di *Myrtus communis* e concentrazione break-point dei principali farmaci antitubercolari nei confronti di ceppi ATCC e di isolati clinici di *Mycobacterium tuberculosis* (dati ottenuti con REMA)

Ceppi	Principali farmaci antitubercolari (concentrazione break-point)				Olio essenziale di <i>M. communis</i> * MIC % v/v
	streptomicina	isoniazide	rifampicina	etambutolo	
ATCC (2)					
H37Rv	S	S	S	S	0,17
H37Ra	S	S	S	S	0,17
Isolati clinici (14)					
2	S	S	S	S	0,17
3	S	S	R	S	0,17
1	R	R	S	S	0,17
1	R	S	R	S	0,17
1	R	R	S	R	0,17
3	S	R	R	S	0,17
1	R	S	S	S	0,17
1	S	R	S	R	0,17
1	S	S	S	R	1

S: sensibile, R: Resistente

* concentrazioni saggiate da 16→0,08 % v/v

Tabella 3. Confronto tra l'attività antibatterica dell'olio essenziale di *Myrtus communis in toto* e quella dei suoi principali componenti nei confronti di ceppi ATCC e di isolati clinici di *Mycobacterium tuberculosis*

Ceppi	Antibiotici SIRE	Olio essenziale di <i>M. communis</i> (MIC % v/v)			
		<i>in toto</i>	limonene	1,8-cineolo	α -pinene
ATCC (2)					
H37Rv	Sensibile	0,17	2	2	1
H37Ra	Sensibile	0,17	2	2	1
Isolati clinici (14)					
2	Sensibile	0,17	2	2	1
1	R a S	0,17	2	2	1
2	R a R	0,17	2	2	1
1	R a R	0,17	2	2	16
1	R a E	1	2	>16	2
1	R a SI	0,17	2	>16	8
1	R a SR	0,17	2	2	1
1	R a IE	0,17	2	>16	2
1	R a SIE	0,17	2	>16	2
3	R a IR	0,17	2	>16	8

SIRE (S: Streptomicina, I: Isoniazide, R: Rifampicina, E: Etambutolo);
 Resistente a (R a): S: Streptomicina, R: Rifampicina E: Etambutolo
 SI: Streptomicina + Isoniazide
 SR: Streptomicina + Rifampicina
 IE: Isoniazide + Etambutolo
 SIE: Streptomicina + Isoniazide + Etambutolo
 IR: Isoniazide + Rifampicina

Per quanto riguarda l' α -pinene l'olio essenziale di *M. communis* ha avuto una maggiore attività antibatterica, rispetto alle precedenti frazioni [MIC 1%(v/v)] oltre che sugli H37 anche su 5 isolati clinici. Il confronto tra l'olio essenziale "in toto" e le frazioni, dimostra però che il primo è più efficace nei confronti di tutti i ceppi saggiati di *M. tuberculosis*. È stata inoltre valutata l'attività dell'olio essenziale su 10 isolati clinici di MNT (Tabella 4).

Tabella 4. Attività antibatterica dell'olio essenziale di *Myrtus communis* nei confronti di Micobatteri Non Tubercolari (MNT)

MNT (10 isolati clinici)	Olio essenziale di <i>M. communis</i> * MIC % v/v
(1) <i>M. intracellulare</i>	4
(1) <i>M. simiae</i>	0,035
(1) <i>M. goodnae</i>	4
(1) <i>M. xenopi</i>	0,008
(1) <i>M. kansasii</i>	0,016
(1) <i>M. phlei</i>	0,061
(1) <i>M. abscessus</i>	0,125
(1) <i>M. avium</i>	0,125
(1) <i>M. scrofulaceum</i>	0,125
(1) <i>M. szulgai</i>	0,016

* concentrazioni saggiate da 16→0,08 % v/v

I risultati mostrano anche in questo caso l'efficacia dell'olio essenziale di *M. communis* nei confronti di tutti i ceppi saggiati con valori di MIC, in alcuni isolati, più bassi rispetto a quelli osservati con *M. tuberculosis* [range 0,008-4% (v/v)]. È stato verificato inoltre con il saggio MTT la possibile tossicità di questo olio su una linea cellulare macrofagica (J774) e i risultati (Figura 1) evidenziano che a concentrazioni inferiori a 0,48% (v/v) il 50% delle cellule sono vitali.

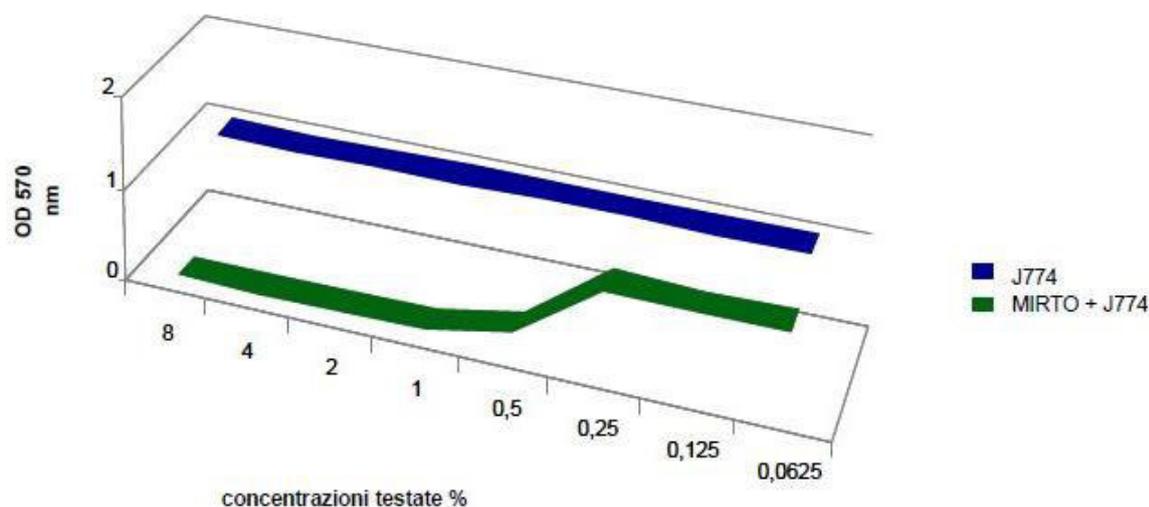


Figura 1. Citotossicità dell'olio essenziale di *Myrtus communis* su cellule macrofagiche murine

Pertanto l'olio essenziale utilizzato ad una concentrazione $\leq 0,48\%$ (v/v), valore che è superiore ai valori di MIC da noi riscontrati su tutti i ceppi di *M. tuberculosis* e su 8 dei 10 ceppi di MNT non è citotossico. I buoni risultati ottenuti ci spingono a ipotizzare che l'olio essenziale di *M. communis* dato il suo potenziale effetto antibatterico nei confronti dell'agente eziologico della tubercolosi e degli MNT possa trovare, effettuando ulteriori studi, un loro eventuale possibile futuro impiego non come antitubercolare, ma come adiuvante della terapia antitubercolare.

Bibliografia

1. Sardi JC, Almeida AM, Mendes Giannini MJ. New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites a brief review. *Arch Oral Biol* 2011;56(10):951-9.
2. World Health Organization. *Global tuberculosis report 2014*. Geneva: World Health Organization;2014. Disponibile all'indirizzo: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/137094/1/9789241564809_eng.pdf?ua=1; ultima consultazione 23/4/2015.
3. Zanetti S, Sechi LA, Molicotti P, Delogu G, Rubino S. In honor of Professor Giovanni Fadda: a fighter against tuberculosis. *J Infect Dev Ctries* 2013;7:159-60.
4. Council of Europe. *European Pharmacopoeia 8th edition: supplement 8.2*. Strasbourg: Council of Europe; 2014.
5. Adams RP. *Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*. Carol Stream, Illinois, USA: Allured Publishing Corporation; 2004.
6. Joulain D, König WA. *The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons*. Hamburg: Verlag Hamburg; 1998.
7. Canetti G, Fox W, Khomenko A, Mahler HT, Menon NK, Mitchison DA, Rist N, Smelev NA. Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull World Health Organ* 1969;41(1):21-43.
8. Ardito F, Sanguinetti M, Sechi L, Posteraro B, Masucci L, Fadda G, Zanetti S. Comparison of the mycobacteria growth indicator tube with radiometric and solid culture for isolation of mycobacteria from clinical specimens and susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*. *New Microbiol* 2000;23(2):151-8.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



I rischi e come mitigarli

Va tenuto conto che gli oli essenziali non sono immuni all'ossidazione e al calore. Per necessità di conservare il più possibile le qualità delle sostanze naturali contenute nelle piante, sono state sviluppate tecniche di estrazione adatte, atte a non alterare **principi attivi** della parte della pianta da cui derivano.

OLI ESSENZIALI: CONTROLLO DI QUALITÀ

Carlo Bicchi, Patrizia Rubiolo

Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Torino, Torino

Per olio essenziale si intende “un prodotto profumato di composizione generalmente complessa, ottenuto a partire da una materia prima vegetale o parte di essa definita correttamente dal punto di vista botanico e ottenuta sia per distillazione in vapore d'acqua o distillazione a secco sia mediante l'impiego di procedimenti meccanici senza riscaldamento”.

Questa definizione, insieme ad ulteriori descrizioni è riportata a partire dal 2007 in Farmacopea Europea (1) e aiuta a comprendere come il processo di ottenimento di un olio essenziale sia fondamentale per la sua definizione. La definizione di olio essenziale a livello internazionale tiene, infatti, conto del fatto che queste miscele complesse sono frutto di un processo tecnologico assodato nel tempo e standardizzato al punto da consentire di poterne definire le caratteristiche compositive differenziando un olio essenziale da un altro. Questa definizione così articolata esclude che l'olio essenziale possa essere ottenuto utilizzando altri sistemi estrattivi e quindi per la definizione di estratti profumati di miscele complesse si dovranno utilizzare altre terminologie anche queste indicative di processi di ottenimento diversi da quelli citati nella definizione (es. concreta, resinoidi, assoluta o semplicemente estratto).

Il controllo di qualità di un olio essenziale dovrà quindi tenere conto di quanto riportato nella definizione.

Come si deve condurre il controllo di qualità?

Analogamente a qualsiasi prodotto che venga a contatto con l'uomo o con un qualsiasi altro organismo vivente, anche gli oli essenziali devono rispondere ai requisiti intrinseci del controllo di qualità e cioè: identità, innocuità (sicurezza) ed efficacia. Tuttavia nel caso degli oli essenziali, questi aspetti sono resi ancor più complicati da garantire come conseguenza della loro complessità compositiva.

I requisiti intrinseci del controllo di qualità di un olio essenziale sono:

– *Identità*

L'identità di un olio essenziale passa attraverso la conoscenza della materia prima vegetale che è stata utilizzata per il suo ottenimento e la definizione dei composti che ne caratterizzano la composizione chimica (*marker*).

– *Innocuità (o sicurezza)*

L'aspetto della sicurezza d'impiego è senz'altro il parametro più importante e passa attraverso la composizione chimica; in questo caso ci si deve avvalere di tecniche analitiche di tipo cromatografico e spettroscopico per una corretta e attenta individuazione dei componenti dell'olio essenziale e della loro abbondanza.

– *Efficacia*

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



La dimostrazione dell'efficacia sarà tendenzialmente il risultato di uno studio bioguidato che dovrà arrivare a definire, se possibile, il/i componente/i biologicamente attivo/i (anche per le caratteristiche organolettiche) evidenziando eventuali sinergie o effetti indesiderati.

Uno degli aspetti più importanti da non sottovalutare nel controllo di qualità è la variabilità compositiva che ciascun olio essenziale può avere e che è legata a numerosi fattori, i quali devono essere considerati e valutati in modo che l'uso e le eventuali proprietà che verranno

attribuite a quel determinato olio essenziale possano essere mantenute e ripetute nel tempo. Di qui l'importanza di conoscere correttamente la pianta, ma soprattutto quella parte di pianta farmacologicamente attiva (= droga) che è sottoposta al processo di distillazione.

La conoscenza della materia prima vegetale e della sua origine si deve quindi tradurre in una denominazione dell'olio essenziale che oltre ad identificarlo in modo generico (es. olio di essenziale di menta) sia accompagnata dal nome botanico della specie vegetale da cui è stato ottenuto (*Mentha x piperita*, *Mentha arvensis*, *Mentha spicata*). Infatti, la composizione chimica dell'olio essenziale potrà anche essere del tutto diversa a seconda della specie botanica.

Un secondo problema che si può manifestare è che pur avendo definito precisamente la specie vegetale di provenienza, la composizione dell'olio essenziale può comunque variare anche decisamente tra un campione e un altro. Questo perché la maggior parte delle specie vegetali aromatiche è caratterizzata da differenti chemiotipi, cioè producono (biosintetizzano) composti chimici differenti pur non manifestando variazioni morfologiche o cariologiche. Ad esempio il timo (*Thymus vulgaris* L.) presenta sette chemiotipi differenti (cioè con composizione "stabilmente" differente), sei dei quali localizzati prevalentemente nel sud della Francia e uno in Spagna (2). Quindi quando si parla di olio essenziale di timo non sarà sufficiente indicare il nome botanico della specie vegetale, ma si dovrà anche indicare quale chemiotipo esso rappresenti e quindi i *marker* che lo caratterizzano. Le differenze chemio tipiche possono essere associate ad una serie di fattori quali il periodo di raccolta della pianta da distillare, la zona di vegetazione della pianta stessa, ecc.: tutto ciò rende quindi indispensabile un monitoraggio attento della composizione e la necessità per gli operatori del settore di avere dei parametri qualitativi ben definiti per l'olio essenziale in oggetto.

Un altro aspetto da non sottovalutare è che la variabilità chimica non si esprime soltanto in termini di composti chimici differenti riscontrabili nell'olio ma, essendo questi associati a cammini biosintetici differenti all'interno della pianta da cui l'olio essenziale viene isolato, molto spesso alcuni componenti sono strutture chirali con una predominanza di un enantiometro rispetto ad un altro. La valutazione quindi della composizione enantiomerica di ogni singolo olio essenziale sarà spesso necessaria, dal un lato per l'autenticazione dell'olio essenziale e dall'altro per indirizzare correttamente gli studi sulla attività biologica dell'olio laddove si voglia tentare di determinare il/i componente/i bioattivo/i.

Le indagini analitiche svolte su molti oli essenziali evidenziano spesso problemi di adulterazione e/o sofisticazione e questo aspetto assume una notevole importanza sia dal punto di vista economico (molti oli essenziali hanno costi molto elevati e quindi non è da sottovalutare l'aggiunta fraudolenta di oli differenti di basso costo e/o qualità o di alcuni componenti dell'olio essenziale stesso ottenuti per sintesi o isolati da altre specie vegetali) sia dal punto di vista della sicurezza e dell'eventuale efficacia.

Ecco perché prima di un qualsiasi utilizzo di un olio essenziale è necessario definirne correttamente la sua composizione non limitandosi semplicemente ad una indicazione sommaria di quelli che dovrebbero essere i composti predominanti.

Bibliografia

1. Council of Europe. *European Pharmacopoeia 8th edition*. Strasbourg: Council of Europe; 2014.
2. Bruneton J. *Pharmacognosie: phytochimie, Plantes medicinales. IV ed*. Cachan: Lavoisier; 2008.

Regolamentazioni di riferimento

Gli oli essenziali attualmente consentiti, fanno riferimento alle direttive europee che ne regolano l'uso, di cui vengono forniti gli estremi di pubblicazione nella Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (GUUE), alcune delle quali:

- CE N.1107/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO, particolare riferimento all'art.4, art.6, art.13paragrafo 4, art.21 e il punto 5 dell'allegato, art.23;
- REGOLAMENTO DI ESECUZIONE UE N. 154/2014;
- DECISIONE DI ESECUZIONE UE 2016/1659;

Oli essenziali nel settore cosmetico e farmaceutico: le norme a supporto

F. Corbo*

Dipartimento di Farmacia-Scienze del Farmaco, Università degli Studi Aldo Moro, Bari

Introduzione. Le proprietà biologiche degli oli essenziali sono ormai largamente documentate da una vasta letteratura che ascrive a queste miscele di composti volatili, azioni sull'uomo, sugli animali e sulle piante. Sono documentate *in vitro* attività anticancro, antinocicettive, antivirali, antiflogistiche, antiossidanti e soprattutto antimicrobiche. Interessanti risultano le evidenze scientifiche relative a proprietà psicoattive (soprattutto stimolanti o sedative) e neurologiche che ne hanno incrementato l'uso fitoterapico negli ultimi 30 anni.

Scopo. Scopo della comunicazione è illustrare quali oli essenziali sono riconosciuti ad uso farmaceutico e cosmetico, passando in rassegna le monografie di quelli riportati sia nella Farmacopea Italiana che Europea, ma anche quelli attualmente consentiti, per uso cosmetico, alla luce del recente Regolamento sui Cosmetici che ne regola l'uso.

Materiali e metodi. Dal punto di vista normativo, gli oli essenziali in quanto tali, diluiti o miscelati, sono soggetti al Regolamento REACH concernente registrazione, valutazione, autorizzazione ed immissione in commercio delle sostanze chimiche, ed al Regolamento CLP relativo alla loro classificazione, etichettatura ed imballaggio.

L'accertamento dell'identità di un olio essenziale è un punto cruciale nel processo di identificazione e classificazione di sostanze e miscele come pericolose poiché consente di applicare misure adatte a diminuire i rischi di pericolosità per la salute umana e per l'ambiente. **Risultati e Conclusioni.** Gli oli essenziali sono formulati in varie forme farmaceutiche e cosmetiche (in queste ultime a volte usati solo per le proprietà organolettiche o antiossidanti) grazie all'evoluzione nelle tecniche di incapsulamento che li rendono più maneggevoli e ne conservano le componenti volatili. Le formule commerciali sono infinite come le aziende che le producono o che le formulano. A tal proposito saranno presentate alcune formulazioni prodotte da aziende che vantano prodotti di alta qualità e con composizione definita e standardizzata, cercando di fornire una panoramica delle indicazioni terapeutiche e dei campi di applicazione.

Aspetti regolatori degli oli essenziali: il caso Tea Tree Oil

M.T. Iela*

Centro Nazionale Sostanze Chimiche, Prodotti Cosmetici e Protezione del Consumatore, Istituto Superiore di Sanità, Roma

L'applicazione degli aspetti regolatori agli oli essenziali è sicuramente una materia estremamente complessa, dal momento che queste miscele di origine vegetale sono utilizzate in una grande quantità di prodotti come ad esempio nei medicinali, nei cosmetici, negli integratori alimentari, nei biocidi, nei dispositivi medici, nelle profumazioni per gli ambienti, addirittura anche nelle preparazioni culinarie. Inoltre essendo miscele biochimiche derivanti da piante aromatiche sono, a tutti gli effetti, parti integranti della fitoterapia, medicina complementare riconosciuta sul territorio italiano (*Conferenza Permanente per i Rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano del 7 febbraio 2013*) e quindi vengono utilizzati negli approcci terapeutici integrati.

Considerando che ogni tipologia di prodotto che viene messo in commercio deve sottostare ad una determinata normativa di riferimento a seconda del "claim" che viene vantato per l'utilizzo, e che esistono molti prodotti definiti "borderline", ossia che possono ricadere in più di una norma, e considerando infine l'elevato numero di oli essenziali presenti sul mercato e l'elevato numero di utilizzi, si è riscontrata grande difficoltà nel tentativo di ordinare i vari aspetti regolatori. Per far comprendere meglio l'argomento e la problematica si è pensato di prendere in considerazione uno dei più conosciuti tra gli oli essenziali, che ha una lunga storia di utilizzo tradizionale e che è molto studiato dal punto di vista scientifico: il "Tea Tree Oil".

Esaminando le varie normative in cui questo olio essenziale viene riportato, si è constatato che sia il nome che la definizione risultano in molti casi differenti. Nella tabella 1 quindi sono riportati fedelmente i nomi utilizzati e le definizioni relative al "Tea Tree Oil". Da quanto elencato emerge sicuramente quanto sia complessa la materia, infatti si può osservare a titolo di esempio che non in tutte le norme citate è presente il numero CAS[†] che individua inequivocabilmente una sostanza chimica, che non sono citate le stesse specie di piante da cui si estrae l'olio essenziale (*Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca viridiflora*) ed anche che la tipologia di estrazione sembrerebbe risultare diversa a seconda delle norme di applicazione (estratto, olio essenziale, olio essenziale in corrente di vapore). Nella relazione successivamente si cercheranno di confrontare le diverse caratteristiche chimico-fisiche di queste miscele e i diversi utilizzi.

Da questo iniziale confronto degli aspetti regolatori riguardanti la commercializzazione di questo olio essenziale "Tea Tree Oil", preso come esempio, ci si può rendere conto che sarebbe auspicabile una sorta di armonizzazione delle normative che riguardano questo particolare settore.

Regolamentazione europea e italiana degli oli essenziali

M. Serafini*, S. Foddai, L. Tomassini, C. Toniolo

Dipartimento di Biologia Ambientale, Sapienza Università di Roma, Roma

Gli oli essenziali (OE) sono sostanze odorose (dette anche *oli eterei* od *oli volatili* o *essenze*) ricavate da organismi vegetali o da secrezioni di piante o, in piccolo numero, anche da secrezioni animali. Richiedono una specifica e complessa normativa, per verificare la qualità dei prodotti da parte dell'industria, di tutela dei suoi clienti e di sicurezza del consumatore. Manca una regolamentazione europea e nazionale.

Illustrare come organizzazioni non governative in ambito mondiale abbiano sviluppato, per gli OE, un insieme di requisiti, di specifiche tecniche, caratteristiche, standard, linee guida o buone pratiche che sono di riferimento per la sicurezza, buona qualità e attendibilità è il nostro intento. Saranno illustrate le modalità con cui la Commissione Tecnica ISO (Technical Committee, TC), ISO TC 54, specifica per gli OE, lavora. A livello europeo ne fanno parte il CEN, e per l'Italia, l'Ente Italiano di Unificazione, che delega i suoi Enti Federati, quali organi tecnici rappresentativi di specifici settori, a svolgere attività in seno al CEN e all'ISO. UNICHIM, è quella nel cui campo di competenza rientrano appunto gli oli essenziali. L'obiettivo della commissione ISO TC 54 è la caratterizzazione degli oli essenziali attuata con la standardizzazione dei metodi di analisi e caratteristiche organolettiche, chimico-fisiche e chimiche. L'iter per arrivare ad avere una norma UNI prevede numerosi passaggi fino ad arrivare alla messa in catalogo ed entrata in vigore. Resta sempre alla massima attenzione anche il controllo di qualità dei prodotti, con varie disposizioni a cui rispondere.

La Federazione europea degli oli essenziali (European Federation of Essential Oils, EFEO) e l'Associazione internazionale dei produttori di profumi (International Fragrance Association, IFRA) hanno pubblicato orientamenti dedicati alla caratterizzazione degli oli essenziali. Fra le autorità di regolamentazione, l'Agenzia europea per le sostanze chimiche (ECHA) rappresenta la forza motrice per l'attuazione dell'innovativa legislazione dell'UE sugli OE.

In conclusione l'insieme delle norme ISO TC 54 individua quattro gruppi per facilitare l'esposizione:

- norme generali;
- preparazione del campione e analisi dei parametri chimico-fisici;
- analisi chimiche e strumentali di parametri chimici e di singole sostanze;
- norme specifiche per singoli oli essenziali.

Questo in attesa di una normativa europea.

Tossicità

La maggior parte degli oli essenziali, anche se "naturali", possono causare effetti tossici se somministrati ad alte dosi. La tossicità può essere studiata tramite saggi *in vitro* come test di citossicità su linee cellulari animali

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



o *in vivo* dove gli animali di laboratorio vengono esposti agli oli essenziali per valutarne gli eventuali effetti avversi. Qualche informazione è stata tratta anche da incidenti casuali avvenuti dopo ingestione o esposizione cutanea nell'uomo. Molti oli essenziali (tra cui oli essenziali di *Lavandula*, *Origanum*, *Melissa officinalis*) hanno mostrato tossicità anche a basse concentrazioni.

È stato postulato che uno dei meccanismi primari di citotossicità è dovuto al danno cellulare simile a quello riscontrato nei batteri e funghi. In generale questi dati *in vitro* non sono molto paragonabili in quanto vengono utilizzate diverse linee cellulari, diversi oli essenziali, dosi e tempi di esposizione.

Una misura della tossicità ampiamente accettata è la LD50 che è la dose letale (*Lethal Dose*) per il 50% degli animali testati: la tossicità orale acuta varia da una dose di 1,4 g/kg per l'olio essenziale di *Ocimum basilicum* a una dose maggiore di 5 g/kg per l'olio essenziale di *Litsea cubeba* e di *Lavandula*. Gli oli essenziali possono essere tossici se applicati ad alte dosi sulla pelle come dimostrato dai valori LD50 di tossicità dermica che variano da una dose di 4,8 g/kg a una dose maggiore di 5 g/kg.

Per quanto riguarda gli effetti tossici negli uomini in genere si sono riscontrati problemi di irritazione e di allergia in soggetti predisposti e le reazioni sono generalmente dose-dipendenti.

In genere tali reazioni sono dovute all'uso di oli essenziali datati, esposti alla luce e all'aria che comportano la formazione di prodotti di ossidazione con un potenziale allergico più elevato

Come usare gli oli essenziali in sicurezza?

Gli oli essenziali sono sostanze molto attive, ma questo non significa che non si possano utilizzare in sicurezza. In realtà ogni giorno entriamo a contatto ed a volte ingeriamo quantità di oli essenziali tramite il nostro cibo ed i prodotti che utilizziamo, come dentifrici cosmetici, ecc. Inoltre, da quando gli oli essenziali sono entrati nell'utilizzo comune come strumenti per il benessere, milioni di persone li hanno utilizzati senza effetti avversi. Detto questo, come tutte le sostanze attive gli oli essenziali possono causare effetti avversi, ed essendo altamente concentrati, il fattore di rischio legato al loro utilizzo è maggiore della maggior parte dei prodotti che normalmente troviamo sui banconi delle erboristerie. È insomma necessario, per usare gli oli essenziali in maniera efficace e sicura, conoscerli bene, usare cura e diligenza e conoscere i termini generali ed i casi particolari (particolari categorie di persone e particolari oli essenziali) del loro utilizzo.

I dati e gli argomenti da conoscere per una valutazione specifica e completa della sicurezza degli oli essenziali sono molti e complessi e sono chiaramente impossibili da riassumere in poche righe, ma è possibile veicolare alcune informazioni di carattere generale che devono guidare il nostro comportamento, salvo essere informati sulle peculiarità degli oli specifici che intendiamo utilizzare.

Avvertenze e Precauzioni

Cosa bisogna sapere quando si utilizzano gli oli essenziali

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



Prima di utilizzare gli oli essenziali è innanzitutto necessario essere certi di acquistare un prodotto puro e 100% naturale. Difatti, in commercio esistono numerose essenze sintetiche che mimano le caratteristiche organolettiche delle essenze naturali ma che potrebbero non avere le stesse proprietà o risultare addirittura dannose. A tal proposito, ricordiamo che non è così insolito che oli essenziali puri vengano sofisticati con essenze sintetiche. Questo tipo di frode è molto comune, per tale ragione è opportuno rivolgersi solo ed esclusivamente a produttori e rivenditori seri e di fiducia.

Per capire se un'essenza è pura e naturale oppure sintetica, in alcuni casi può essere utile valutare il prezzo del prodotto che si intende acquistare: ad esempio, 1 kg di essenza sintetica di rosa costa all'ingrosso 10 euro; mentre 1 kg di olio essenziale di rosa damascena costa, secondo la sua provenienza, dai 5.000 ai 10.000 euro. È comunque doveroso precisare che non sempre la differenza di prezzo è così netta e chiara; ma, in linea di massima e in proporzione, le essenze sintetiche costano molto meno rispetto a quelle naturali ottenute interamente dalla pianta.

Oltre ad assicurarsi di aver acquistato un olio essenziale puro, è necessario sapere che le essenze sono sostanze estremamente concentrate che potrebbero risultare - in maniera più o meno accentuata, a seconda dei casi - irritanti per cute e mucose. Pertanto, prima di utilizzarle in qualsiasi modo, esse dovrebbero essere sempre diluite.

Gli **oli essenziali** potrebbero contenere (ad alte dosi) al loro interno alcuni **allergeni** come il limonene e il geraniolo, i quali determinano le allergie più diffuse poiché sono quelli maggiormente riprodotti sinteticamente e utilizzati nella produzione industriale di bagnoschiuma, profumi, deodoranti, creme e cosmetici. Le irritazioni avvengono solo attraverso l'utilizzo per via cutanea.

Fasce più sensibili agli oli essenziali: donne in stato di gravidanza, bambini e animali da compagnia

Tra circa 90 oli essenziali ricavabili in natura, solo 30 sono controindicati in gravidanza, le altre fragranze, vanno diluite nelle giuste quantità. E' consigliato in particolare l'utilizzo di quattro oli essenziali: mandarino, lavanda, camomilla e rosa. Il loro raggio di azione è completo e versatile e sono talmente sicuri che possono essere usati anche sui bambini, dai neonati fino ai piccoli di 6 anni di età.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



I bambini hanno un olfatto estremamente acuto e delicato, che va rispettato. Nella prima infanzia sono consigliati oli essenziali particolarmente gentili, legati alla coccola e al rilassamento: Arancio, Lavanda, Camomilla Blu, Mandarino, Vaniglia. Puoi impiegarli per una diffusione ambientale lieve, sugli abitini o sul cuscino, all'interno di una crema per un massaggio o in un bagnetto aromatico. Scopri Dolci Nanne e Coccola, le sinergie Olfattiva dedicate ai più piccoli!

I nostri amici a quattro zampe beneficiano di un olfatto sovrappiù (con circa 200 milioni di recettori), che potrebbe essere turbato da odori troppo forti. Ci sono oli essenziali che i cani prediligono rispetto ad altri, come la Lavanda e la Camomilla: oltre che un ottimo olfatto, essi hanno un istinto fine e sembrano riconoscere gli oli più adatti a loro. Puoi utilizzare l'idrolato di Lavanda per la pulizia del pelo (eccezionale!) e il Tea Tree per allontanare zecche, pulci e parassiti.

Conclusioni

Gocce di mandarino verde sulla macedonia per aiutare la digestione. Lime nell'acqua per rinfrescarsi e ritrovare equilibrio ed energia. Menta come antinfiammatorio, bergamotto come analgesico. Il mondo degli oli essenziali sembra fornire una risposta per ogni piccolo, grande disturbo, fisico e non solo, ed esigenza. Basta fare una ricerca su Instagram per verificare in quante occasioni vengano usati e non solo per aromaterapia e massaggi. In un'Italia che ogni giorno si sveglia più verde stiamo riscoprendo le proprietà delle erbe aromatiche, da cui si ricavano anche questi oli che altro non sono che miscele di diversi componenti chimici che agiscono sinergicamente. Le stesse che le piante usano per sconfiggere malattie o allontanare insetti.

Con l'interesse aumentano gli studi che ne indagano le proprietà contro virus e batteri, come immunostimolanti e come antiossidanti. Agli studi pre clinici se ne stanno affiancando di clinici. Alcuni oli si usano per via topica, tramite massaggio, altri olfattiva, tramite un diffusore che riempie l'aria di profumi intensi, come modulatori dell'umore oppure per il trattamento di dolore o stress. Ci sono nomi che non lasciano dubbi come "hope" o "serenity".

A titolo esaustivo si allega una tabella della Fitomedical, agenzia del farmaco erboristica italiana, che descrive l'aspetto e il profilo aromacologico degli oli essenziali.

SENECA AIR S.r.l.

Via Borgonuovo, 44 – Isola del Liri (FR) – 03036 P.IVA 02928150602

Tel. 0776 850005 Fax. 0776 853701



www.senecaair.com



info@senecaair.com

**PROFILO AROMACOLOGICO DEGLI OLI ESSENZIALI**

ESSENZE	<p align="center">Nota aromatica</p> <p align="center"><i>Legenda</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>cineolica</i>: ricorda l'Eucalipto ○ <i>cinnamica</i>: ricorda la Cannella ○ <i>eugenolica</i>: come il chiodo di Garofano ○ <i>fenolica</i>: come Timo e Origano ○ <i>metilsalicilica</i>: ricorda il Wintergreen e la Betulla ○ <i>terebentinacea</i>: di trementina, Lentisco 	<p align="center">Profilo aromacologico</p> <p align="center">descrive l'attività delle essenze sull'umore, le emozioni e gli stati d'animo</p>
ABETE SIBERIANO foglie - <i>distillato</i>	fresca, silvestre, balsamica, di legno	tonico, rinfrescante, propositivo; <i>incertezza, stanchezza mentale</i>
ACHILLEA sommità fiorite - <i>distillato</i>	fresca, erbacea, penetrante	tranquillante, riequilibrante; <i>stress, paura</i>
ALLORO foglie - <i>distillato</i>	fresca, speziata, dolce, canforata	vitalizzante, calmante, riequilibrante; <i>chiusura mentale, scarsa autostima</i>
ANGELICA frutti <i>distillato</i>	fresca, intensa, speziata, anisata, di pepe	stimolante, tonico; <i>torpore, letargia, tristezza</i>
ANGELICA radici <i>distillato</i>	calda, di legno, di fumo d'incensi, leggermente muschiata	riequilibrante, sedativo; <i>affaticamento mentale, ansia, sonno difficile</i>
ANICE VERDE frutti - <i>distillato</i>	calda, dolce, anisata, erbacea, di liquirizia	attivante, ritmicizzante; <i>nervosismo, stanchezza mentale, cambiamenti d'umore</i>
ARANCIO AMARO pericarpo - <i>da spremitura</i>	asciutta, fresca, agrumata, verde	calmante, vivificante; <i>abbattimento, stanchezza, ansia</i>
ARANCIO DOLCE pericarpo - <i>da spremitura</i>	fresca, dolce, fruttata, agrumata	calmante, rilassante; <i>tensione nervosa, inquietudine</i>
BASILICO foglie - <i>distillato</i>	dolce, erbacea, verde, speziata	tonico, rinfrescante; <i>scarsa concentrazione, obnubilamento, tensione</i>
BASILICO a linalolo foglie - <i>distillato</i>	dolce, fresca, floreale, erbacea	tonico, stimolante; <i>astenia, malinconia, depressione</i>
BENZOINO SIAM oleoresina - <i>assoluta</i>	dolce, vanigliata, balsamica, speziata	rilassante, calmante; <i>preoccupazioni, tristezza, solitudine</i>
BERGAMOTTO pericarpo - <i>da spremitura</i>	fresca, agrumata, floreale, verde, legnosa	calmante e nel contempo tonico; <i>ansia, acrimonia, frustrazione</i>



BETULLA corteccia - <i>distillato</i>	dolce, legnosa, metilsalicilica	stimolante; <i>ottundimento, letargia, stanchezza</i>
CAJEPUT foglie - <i>distillato</i>	fresca, dolce, erbacea, balsamica, cineolica	riequilibrante, tonificante; <i>pigrizia, lentezza, abulia</i>
CAMOMILLA capolini - <i>distillato</i>	dolce, erbacea, fruttata di mela e miele	calmante, rilassante; <i>nervosismo, tensione emotiva, amarezza, confusione</i>
CAMOMILLA MAROCCO sommità fiorite - <i>distillato</i>	fresca, erbacea, canforata, balsamica	calmante riequilibrante; <i>impulsività, precipitazione, confusione, timore</i>
CAMOMILLA ROMANA capolini - <i>distillato</i>	dolce, erbacea, verde, legnosa	calmante, tranquillante; <i>instabilità mentale, ipersensibilità, irritabilità, scontentezza</i>
CANFORA legno - <i>distillato</i>	intensa, legnosa, canforata, balsamica	stimolante, riequilibrante; <i>apatia, malinconia, depressione, anergia</i>
CANNELLA corteccia <i>distillato</i>	dolce, calda, speziata, cinnamica	tonico, stimolante; <i>freddezza emotiva, instabilità, debolezza, paura</i>
CANNELLA foglie <i>distillato</i>	intensa, legnosa, speziata, eugenolica	tonico, stimolante; <i>pesantezza, intorpidimento, letargia, pessimismo</i>
CARDAMOMO semi - <i>distillato</i>	calda, speziata, balsamica, cineolica, canforata	rigenerante, rinfrescante; <i>stress, apatia, rigidità mentale</i>
CAROTA frutti - <i>distillato</i>	dolce, calda, erbacea, legnosa, speziata	equilibrante, attivante; <i>stanchezza, sconforto, risentimento</i>
CARVI frutti - <i>distillato</i>	fresca, dolce, speziata, leggero sentore di pepe	riscaldante, tonico; <i>sensazioni di ottundimento, stanchezza</i>
CEDRO pericarpo - <i>da spremitura</i>	fresca, agrumata, intensa, leggera nota floreale	attivante, rinfrescante; <i>sensazioni di ottundimento, inadeguatezza, estraneità</i>
CEDRO DELL'ATLANTE legno - <i>distillato</i>	asciutta, calda, legnosa, balsamica	riequilibrante, rilassante; <i>dispersione, ansia, irrazionalità, fissazioni</i>
CIPRESSO rami fogliati - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, legnosa, terrosa, speziata	calmante, rischiarante; <i>tristezza, irritabilità, durezza, isolamento, paure</i>
CITRONELLA parti aeree - <i>distillato</i>	fresca, agrumata, erbacea, rosata, legnosa	stimolante, rinfrescante; <i>pesantezza, cali di memoria, malinconia</i>
CORIANDOLO frutti - <i>distillato</i>	dolce, fresca, erbacea, floreale, speziata	tonico, attivante; <i>pigrizia mentale, letargia, nervosismo, vulnerabilità</i>
CUBEBE frutti - <i>distillato</i>	fresca, erbacea, legnosa, speziata, con leggero sentore di fumo	stimolante, tonico; <i>sonnolenza, distrazione, freddezza emotiva</i>



CUMINO frutti - <i>distillato</i>	calda, speziata, muschiata, untuosa	calmante, rilassante; <i>insonnia, esaurimento, paure, tensione</i>
DRAGONCELLO sommità fiorite - <i>distillato</i>	dolce, anisata, speziata, legnosa	calmante, sedativo; <i>disturbi del sonno, nervosismo, angoscia</i>
ELICRISO sommità fiorite - <i>distillato</i>	calda, legnosa, erbacea, teacea, speziata	rischiarante, attivante; <i>depressione, ipersensibilità, paure, fobie</i>
EUCALIPTO foglie - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, cineolica, erbacea	stimolante, attivante; <i>sonnolenza, obnubilamento, pesantezza</i>
EUCALIPTO CITRATO foglie - <i>distillato</i>	intensa, fresca, agrumata, balsamica	calmante, rilassante; <i>nervosismo, senso di svuotamento, confusione o vuoti mentali</i>
EUCALIPTO OFFICINALE foglie - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, verde, legnosa	tonico, equilibrante; <i>astenia, paure, ipocondria, confusione mentale</i>
FINOCCHIO frutti - <i>distillato</i>	dolce, terrosa, anisata, pungente	tonico ma rilassante; <i>blocchi emotivi e mentali, difficoltà di concentrazione, ansia</i>
GAROFANO CHIODI boccioli fiorali - <i>distillato</i>	calda, speziata, fruttata, eugenolica	tonico, attivante; <i>letargia, affaticamento mentale, debolezza</i>
GELSOMINO fiori - <i>assoluta</i>	calda, dolce, floreale, leggermente speziata	calmante, riscaldante; <i>scarsa vitalità, freddezza emotiva, insicurezza</i>
GERANIO BOURBON foglie - <i>distillato</i>	floreale, rosata, leggermente verde e agrumata	rilassante, riequilibrante; <i>rigidità, insicurezza, ansia, umore altalenante</i>
GINEPRO bacche - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, legnosa, terebentinacea	rischiarante, equilibrante; <i>esaurimento, conflitti emotivi, confusione, scarsa autostima</i>
INCENSO oleoresina - <i>distillato</i>	fresca, legnosa, resinosa, speziata	calmante, amplificante; <i>attaccamento, disperazione, paura, blocchi mentali</i>
KANUKA foglie - <i>distillato</i>	calda, erbacea, terrosa, balsamica	rilassante, rinforzante; <i>stati d'ansia con esaurimento, panico, confusione</i>
LAVANDA SPIGO sommità fiorite - <i>distillato</i>	fresca, erbacea, canforata	tonico, stimolante; <i>astenia, abulia, pesantezza</i>
LAVANDA VERA sommità fiorite - <i>distillato</i>	dolce, fresca, erbacea, floreale	tonico, calmante; <i>confusione, ansia, angoscia, paura</i>
LAVANDINO sommità fiorite - distillato	fresca, erbacea, legnosa, leggermente canforata	tonico, stimolante, equilibrante; <i>ottundimento, stanchezza, ansia</i>



LEGNO CEDRO legno - <i>distillato</i>	calda, legnosa, asciutta, leggermente balsamica	calmante, equilibrante; mancanza di concentrazione, confusione, irrisolutezza, ansia
LEGNO DI ROSA legno - <i>distillato</i>	dolce, floreale, rosata, legnosa	equilibrante, rasserenante; stress, indecisione, rammarico
LENTISCO oleoresina - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, verde, terebentinacea	stimolante, attivante; letargia, malinconia, rinuncia, depressione
LIMONE pericarpo - <i>da spremitura</i>	fresca, verde, agrumata	rischiarante, attivante, calmante; fretta, confusione, esaurimento temporaneo, ansia
MAGGIORANA sommità fiorite - <i>distillato</i>	calda, speziata, legnosa, leggermente muschiata	calmante, strutturante; nervosismo, inquietudine, solitudine, abbandono, struggimento
MANDARINO pericarpo - <i>da spremitura</i>	dolce, floreale, agrumato	tranquillante, calmante, tonico; nervosismo, arrabbiatura, insensibilità, pesantezza
MANUKA foglie - <i>distillato</i>	calda, legnosa, terrosa, balsamica	tonificante, bilanciante; distrazione, obnubilazione, ansia, conflittualità
MELISSA foglie - <i>distillato</i>	fresca, verde, agrumata	calmante, rigenerante; blocchi emotivi, agitazione, sconforto, negatività
MENTA PIPERITA foglie - <i>distillato</i>	fresca, verde, intensa, mentolata, canforata	attivante, rinfrescante; affaticamento mentale, apatia, letargia
MENTA VERDE foglie - <i>distillato</i>	fresca, erbacea, verde, mentolata, speziata	attivante, equilibrante; nervosismo, affaticamento, rinuncia, ansia
MIRRA oleoresina - <i>distillato</i>	calda, balsamica, speziata, leggermente anisata	rigenerante, focalizzante; confusione, depressione, rinuncia, apatia
MIRTO foglie - <i>distillato</i>	fresca, erbacea, leggermente dolce, balsamica, cineolica	equilibrante, calmante; stanchezza e disturbi del sonno, collera, agitazione
NEPETA parti aeree - <i>distillato</i>	fresca, pungente, erbacea, mentolata, leggermente speziata	sedativo, rinforzante; ansia, nevrosi, stati depressivi, paura, incubi notturni
NEROLI BIGARADE fiori - <i>distillato</i>	calda, dolce, floreale, leggermente agrumata e mielata	calmante, distensivo; tensione, stress, ansia, tristezza, paura, ricordi dolorosi
NIAOULI foglie - <i>distillato</i>	fresca, dolce, cineolica, canforata	stimolante, rischiarante; concentrazione difficile, confusione, stanchezza mentale



NIAOULI A NEROLIDOLO foglie - <i>distillato</i>	fresca, verde, cineolica, balsamica	tonico, equilibrante; astenia, letargia, intontimento, delusione
NIGELLA semi - <i>distillato</i>	calda, muschiata, speziata, terrosa	consolidante, equilibrante; incertezza, scarsa autostima, pensieri fissi, ansia
NOCE MOSCATA semi - <i>distillato</i>	calda, speziata, legnosa	attivante, chiarificante; distrazione, stress, aggressività
ORIGANO sommità fiorite - <i>distillato</i>	calda, pungente, erbacea, speziata	stimolante, potenziante; abulia, pigrizia, distrazione, sogni ad occhi aperti
ORIGANO SPAGNA sommità fiorite - <i>distillato</i>	calda, pungente, erbacea, fenolica	tonico, stimolante; astenia, indifferenza, letargia
PALMAROSA parti aeree - <i>distillato</i>	dolce, erbacea, rosata, terrosa	calmante e tonico; surmenage, stanchezza, agitazione, anticipazione
PATCHOULI parti aeree - <i>distillato</i>	dolce, terrosa, legnosa, muschiata, balsamica	stimolante, riequilibrante; depressione, stress, indecisione, tensione, blocchi emotivi
PEPE NERO frutti - <i>distillato</i>	calda, speziata, legnosa, secca	tonico, stimolante; blocchi emotivi, freddezza, tendenze compulsive, insicurezza
PETITGRAIN BIGARADE rami fogliati - <i>distillato</i>	dolce, fresca, agrumata, speziata	rilassante, rivitalizzante; confusione, disarmonia, tristezza, pessimismo
PETITGRAIN LIMONE rami fogliati - <i>distillato</i>	fresca, agrumata, verde, legnosa	calmante e tonico; pesantezza mentale, agitazione, pensieri circolari
PETITGRAIN MANDARINO rami fogliati - <i>distillato</i>	dolce, fresca, floreale, agrumata	sedativo, rasserenante; irritazione, agitazione, sonno inquieto, pensieri fissi
PIMENTO foglie - <i>distillato</i>	dolce, calda, speziata, eugenolica, legnosa	tonificante, riscaldante; pigrizia, indifferenza, freddezza emotiva, malinconia
PINO MARITTIMO foglie - <i>distillato</i>	calda, balsamica, verde, legnosa	attivante mentale, stimolante; letargia, chiusura mentale, affaticamento
PINO MUGO foglie - <i>distillato</i>	dolce, balsamica, speziata, legnosa	tonico, stimolante; indifferenza, stress, abulia, rancore
PINO NERO CANADESE foglie - <i>distillato</i>	fresca, penetrante, balsamica	stimolante, attivante; astenia mentale, esaurimento nervoso, letargia
PINO SILVESTRE foglie - <i>distillato</i>	calda, balsamica, verde, penetrante	stimolante, riequilibrante; anergia, intontimento, letargia, depressione



POMPELMO pericarpo - <i>da spremitura</i>	fresca, dolce, verde, agrumata	riattivante, stimolante; stress, distrazione, rallentamento mentale, autocriticismo, tristezza
RAVENSARA foglie - <i>distillato</i>	fresca, erbacea, cineolica, balsamica	tonico, attivante; stress, stanchezza con sonnolenza, disturbi del sonno, tristezza, delusione
ROSA BULGARA fiori - <i>distillato</i>	dolce, floreale, rosata, speziata	armonizzante, attivante; amarezza, sconforto, depressione, rassegnazione, invidia
ROSA DI MAGGIO fiori - <i>assoluta</i>	dolce, floreale, rosata, moscata, speziata	armonizzante, riscaldante; blocchi emotivi e di rapporti, passività, mancanza di autostima
ROSMARINO A VERBENONE parti aeree - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, erbacea, legnosa, leggermente amara	tonico, chiarificante; stanchezza con tensione, depressione, memoria ridotta
ROSMARINO A BORNEOLO parti aeree - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, legnosa, penetrante, canforata	tonico, stimolante; letargia, introversione, negatività, insofferenza
ROSMARINO A CINEOLO parti aeree - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, legnosa, penetrante, cineolica	tonico, stimolante; blocchi mentali, rallentamento, sonnolenza, confusione
SALVIA parti aeree - <i>distillato</i>	calda, erbacea, speziata, amarognola	tonico, distensivo; rallentamento mentale, variazioni d'umore, pigrizia, scarsa memoria
SANDALO legno - <i>distillato</i>	aromatica, legnosa, balsamica, terrosa	chiarificante, equilibrante; disagio, solitudine, abbandono, ossessioni
SANDALO DELLE INDIE legno - <i>distillato</i>	dolce, legnosa, fumosa, pepata	bilanciante, tonico; disagio, rinuncia, nostalgia, tristezza
SANTOREGGIA MONTANA sommità fiorite - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, pungente, fenolica	tonico, stimolante; abulia, letargia, senso di svuotamento, depressione
SCLAREA parti aeree - <i>distillato</i>	dolce, erbacea, verde, moscata	calmante, riscaldante; nervosismo, instabilità, preoccupazione, paura
SEDANO frutti - <i>distillato</i>	fresca, verde, speziata, legnosa	riequilibrante, attivante; ansia, annebbiamento, afflizione, malinconia, pena
SERPILLO sommità fiorite - <i>distillato</i>	fresca, penetrante, erbacea, fenolica	tonico, stimolante; stanchezza, abulia, scarsa determinazione
TEA TREE foglie - <i>distillato</i>	fresca, balsamica, canforata, speziata	tonico, vitalizzante; stanchezza da stress, depressione, sonnolenza, pensieri cupi