

LE FASI DELLA MALATTIA DA COVID-19

Durante la risposta all'infezione virale da SARS-Cov-2 si possono distinguere le seguenti fasi:

Entrata del virus:

l'inizio della replicazione virale può causare la morte delle cellule infettate, perdite vascolari e rilascio di mediatori pro-infiammatori con l'attivazione di una prima ondata di mediatori dell'infiammazione.

Le citochine sono delle proteine prodotte dalle cellule in risposta all'infezione e sono implicate nella formazione di uno stato antivirale come prima linea di difesa non specifica e una successiva risposta specifica contro il virus.

Questo processo inizia attraverso il riconoscimento delle molecole virali da parte dei PRR (pattern recognition receptors – recettori dell'immunità innata), presenti come recettori transmembrana o in diversi compartimenti intracellulari.

Dopo il legame con il virus, il recettore (nel caso del SARS-Cov-2 sono i TLR 7 e 9) subisce un cambiamento strutturale che attiva una via di segnalazione nel citoplasma che a sua volta promuove l'espressione di diverse citochine.

Nel processo di infiammazione, le cellule infettate dal virus producono e secernono citochine proinfiammatorie come IL-1, IL-6, IL-8, TNF e IFN, coinvolte nella difesa precoce dell'organismo. Possono attivare le cellule presenti nel sito di infezione e reclutare cellule leucocitarie dal sistema circolatorio.

A seconda dell'intensità di questa prima risposta infiammatoria l'infezione può essere asintomatica o sintomatica.

Fase sintomatica dell'infezione virale:

i sintomi sono simili a quelli influenzali e durano circa 7-10 giorni.

Il sistema immunitario innato reagisce per bloccare la replicazione del virus.

Se la persona ha una risposta immunitaria efficiente l'infezione si risolve senza complicazioni.

La presentazione clinica dell'infezione da COVID-19 è più coerente con una malattia virale subacuta piuttosto che acuta.

Rispetto alle infezioni da influenza H1N1, in cui il tempo mediano di incubazione è di 2 giorni e la maggior parte dei ricoveri in unità di terapia intensiva si verifica entro 24–48 h dal ricovero, i pazienti con infezione da COVID-19 si presentano in ospedale con un tempo mediano di incubazione di 5-7 giorni e sono generalmente ricoverati in

ospedale per altri 3-4 giorni prima di richiedere l'ammissione al reparto di terapia intensiva.¹

È importante fare presente che rispetto ad altri virus respiratori, l'infezione da SARS-CoV-2 determina una **risposta antivirale inferiore** caratterizzata da bassi livelli di Interferone-I (IFN-I) e IFN-III e da un'**iperinfiammazione** dovuta all'elevata espressione di mediatori dell'infiammazione e di IL-6.

In questa fase può manifestarsi l'**immunosoppressione**, dovuta sia alla deplezione (eliminazione selettiva dei linfociti T che hanno reagito contro il virus) che all'esaurimento delle cellule T, e ciò può contribuire alla persistenza virale e alla mortalità da COVID-19.

La **linfopenia** (diminuzione, assoluta o relativa, del numero dei linfociti nel sangue circolante) è l'anomalia di laboratorio più consistente ed è importante procedere con un intervento precoce e più urgente in presenza di una conta dei linfociti T bassa, in quanto i pazienti sono più vulnerabili alle infezioni secondarie.²

A questa si aggiunge anche una marcata **eosinopenia** (in questo caso assenza di eosinofili), associata ad una prognosi negativa.³

Quindi, in una parte di individui infetti, il SARS-CoV-2 elude il riconoscimento da parte del sistema immunitario attraverso la soppressione dei meccanismi antivirali, favorendo la complicazione della malattia.

¹ Zhou F, Yu T, Du R, et al.

Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study [published correction appears in Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1038] [published correction appears in Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1038].
Lancet. 2020;395(10229):1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7270627/>

² Front. Immunol. 11:827. (2020) doi: 10.3389/fimmu.2020.00827

Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).
Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L, Chen L, Li M, Liu Y, Wang G, Yuan Z, Feng Z, Zhang Y, Wu Y and Chen Y
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.00827/full>

³ Li Q, Ding X, Xia G, et al.

Eosinopenia and elevated C-reactive protein facilitate triage of COVID-19 patients in fever clinic: A retrospective case-control study.
EClinicalMedicine. 2020;23:100375. Published 2020 May 3. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100375
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7196382/>

Complicazione dell'infezione:

comparsa dei sintomi polmonari. Il sistema immunitario reagisce in maniera esagerata all'infezione, non contenuta durante la prima fase, con la produzione di alte quantità di mediatori dell'infiammazione. Se non si interviene farmacologicamente, la complicazione può progredire rapidamente alla fase più grave.

L'infiammazione del polmone è la causa principale delle complicazioni potenzialmente letali delle vie respiratorie nella fase grave, e come si è potuto dimostrare recentemente, la **coagulazione polmonare intravascolare diffusa** è una delle patologie che portano a morte il paziente se non trattato opportunamente nella fase iniziale.⁴

Successivamente alla fase di immunosoppressione/iperinfiammazione, le cellule infettate subiscono la morte cellulare e rilasciano particelle di virus insieme a componenti intracellulari che innescano di nuovo i meccanismi infiammatori innati attraverso il loro riconoscimento da parte dei PRR presenti nelle/sulle cellule immunitarie innate, con la risultante espressione di citochine pro-infiammatorie (tra cui IL-1 β , IL-6, TNF- α , ecc.), e l'attivazione delle cellule immunitarie adattative che vengono così coinvolte nella difesa dell'ospite.

*Quando le cellule immunitarie adattative (i linfociti T svolgono un ruolo centrale in questa fase) si attivano, innescano una **"seconda ondata" di infiammazione** (sindrome da tempesta di citochine e i suoi sottotipi), che si può riscontrare nei pazienti COVID-19 che hanno un deterioramento rapido dopo 7-10 giorni di infezione.*

Va considerato che anche i mastociti sono una fonte importante di queste citochine proinfiammatorie e mediatori broncocostrittori⁵ e la causa della **sindrome da attivazione dei mastociti**⁶ (i mastociti attivati dal virus inducono una tempesta

⁴ Dennis McGonagle, James S O'Donnell, Kassem Sharif, Paul Emery, Charles Bridgewood Immune mechanisms of pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia Lancet Rheumatol 2020; 2: e437–45 May 7, 2020 [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30121-1](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30121-1) [https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913\(20\)30121-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanrhe/article/PIIS2665-9913(20)30121-1/fulltext)

⁵ <https://www.cebm.net/covid-19/mast-cell-stabilisers-leukotriene-antagonists-and-antihistamines-a-rapid-review-of-effectiveness-in-covid-19/>

Mast Cell Stabilizers as a Supportive Therapy Can Contribute to Alleviate Fatal Inflammatory Responses and Severity of Pulmonary Complications in COVID-19 Infection <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1061074>

⁶ Afrin LB, Weinstock LB, Molderings GJ. Covid-19 Hyperinflammation and Post-Covid-19 Illness May Be Rooted in Mast Cell Activation Syndrome

eicosanoide con rilascio massivo di istamina, prostaglandina D2 (PGD2) e leucotriene C₄ (LTC₄) che inducono broncocostrizione acuta e infiammazione polmonare, potenzialmente associata alle forme gravi da COVID-19 e al maggiore rischio di fibrosi polmonari post-infettive.⁷

Fase molto severa/fatale:

Il deterioramento clinico improvviso e rapido si manifesta spesso come un inaspettato aggravamento dei sintomi (febbre, dispnea) ed è correlato con un aumento dei livelli di marcatori della fase acuta (ESR, PCR, ferritina), coagulopatia (titoli elevati di D-dimeri, coagulazione intravascolare) e lisi cellulare (CK, LDH).

Nei pazienti più gravi, i parametri clinici e di laboratorio sono correlati ad un aumento dei livelli di citochine proinfiammatorie (IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, TNF- α e sIL2-R α), evocativo di una tempesta di citochine.⁸

Queste manifestazioni sono legate all'attacco delle strutture dell'organismo da parte del sistema immunitario.

La tempesta di citochine si può verificare a causa della combinazione di una prima linea di difesa mediata dall'IFN I difettosa, o ritardata, seguita dalla produzione di livelli elevati e persistenti di citochine (ipercitochinemia) IL-6, IL-1 β e TNF- α e una risposta disfunzionale delle cellule T (generalmente di citotossicità).

[published online ahead of print, 2020 Sep 10]. Int J Infect Dis. 2020;S1201-9712(20)30732-3.
doi:10.1016/j.ijid.2020.09.016
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7529115/pdf/main.pdf>

Theoharides TC, Tsilioni I, Ren H.

Recent advances in our understanding of mast cell activation - or should it be mast cell mediator disorders?

Expert Rev Clin Immunol. 2019;15(6):639-656. doi:10.1080/1744666X.2019.1596800
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7003574/>

⁷ Panigrahy D, Gilligan MM, Huang S, et al.

Inflammation resolution: a dual-pronged approach to averting cytokine storms in COVID-19?

Cancer Metastasis Rev. 2020;39(2):337-340. doi:10.1007/s10555-020-09889-4

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7207990/pdf/10555_2020_Article_9889.pdf

Sanchez-Gonzalez MA, Moskowitz D, Issuree PD, Yatzkan G, Rizvi SAA, Day K.

A Pathophysiological Perspective on COVID-19's Lethal Complication: From Viremia to Hypersensitivity Pneumonitis-like Immune Dysregulation.

Infect Chemother. 2020;52(3):335-344. doi:10.3947/ic.2020.52.3.335

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7533209/>

⁸ Clin Immunol. 2020 Apr 27;215:108448. doi: 10.1016/j.clim.2020.108448.

COVID-19: Immunology and treatment options.

Felsenstein S1, Herbert JA2, McNamara PS2, Hedrich CM3.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7185015/pdf/main.pdf>

Ciò si traduce in una compromissione dell'eliminazione delle cellule morte o infettate, un aumento della replicazione e diffusione virale che attiva ulteriormente i macrofagi, e culmina nel rilascio massivo di citochine multiple e nel danno multiorgano.

*Durante la complicazione la persona può andare incontro a **coinfezioni di tipo batterico** (soprattutto ospedaliere antibiotico-resistenti) che aggravano ulteriormente il quadro clinico.*

Va segnalato che il SARS-Cov-2 aumenta i livelli nelle cellule di una molecola nota come bradichinina causando un fenomeno definibile come "**tempesta di bradichinina**". La bradichinina induce dolore e provoca l'espansione dei vasi sanguigni e la perdita di liquido che porta a gonfiore e infiammazione del tessuto circostante. La fuoriuscita di liquido nei polmoni indotta dalla tempesta di bradichinina, combinata con l'acido ialuronico prodotto in eccesso, si traduce nella formazione di un idrogel che impedisce l'assorbimento di ossigeno e il rilascio di anidride carbonica nei polmoni dei pazienti COVID-19 gravi.⁹

Gravi infezioni da SARS-Cov-2 sembrano causare profonde anomalie della coagulazione indotte dall'infiammazione in combinazione con una grave lesione delle cellule endoteliali e il conseguente rilascio massiccio del fattore di von Willebrand e attivatori del plasminogeno.

Questa coagulopatia probabilmente contribuisce alla trombosi microvascolare polmonare (**coagulopatia associata al COVID-19**), alla deposizione di fibrina broncoalveolare (che è un segno distintivo della sindrome da distress respiratorio dell'adulto) e alle complicanze tromboemboliche.¹⁰

Fase post-infettiva:

sarà importante effettuare il monitoraggio dei pazienti che hanno superato le complicazioni, in quanto sono possibili **reazioni autoimmuni a lungo termine**.¹¹

⁹ Garvin MR, Alvarez C, Miller JJ, et al.

A mechanistic model and therapeutic interventions for COVID-19 involving a RAS-mediated bradykinin storm.

Elife. 2020;9:e59177. Published 2020 Jul 7. doi:10.7554/eLife.59177

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7410499/>

¹⁰ Becker RC.

COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy.

J Thromb Thrombolysis. 2020;50(1):54-67. doi:10.1007/s11239-020-02134-3

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7225095/>

¹¹ Talotta R, Robertson E.

Strategie di evasione immunitaria del SARS-Cov2

Come visto sopra, nelle **cellule epiteliali che esprimono il recettore ACE2**, la soppressione delle prime risposte pro-infiammatorie mediate dagli interferoni di tipo I (IFN) e dalle citochine IL-1, IL-6 e TNF- α ostacola il contenimento del virus.

L'induzione del danno cellulare endoteliale e vascolare e la morte cellulare a seguito della replicazione virale provocano **risposte infiammatorie forti** e scarsamente controllate, con conseguenti danni ai tessuti e infiammazione sistemica, che contribuiscono entrambi alla complicazione della malattia.

Nei **monociti/macrofagi tissutali** avviene invece un processo noto come **potenziamento dipendente dall'anticorpo (ADE)** in cui i complessi immunitari costituiti da anticorpi poco specifici contro il SARS-Cov-2 e da particelle virali possono essere inglobati dai macrofagi causando la loro infezione.¹²

Nei macrofagi infettati, il virus anziché venire processato per essere presentato alle altre cellule del sistema immunitario, da un lato inibisce il segnale degli IFN di tipo I e dall'altro consente l'espressione pro-infiammatoria di IL-1, IL-6 e TNF- α , contribuendo alla sindrome della tempesta di citochine e al potenziamento fatale della malattia.

*Questo meccanismo avviene quando all'atto dell'infezione sono presenti **anticorpi IgG non neutralizzanti e in quantità sub-ottimale** che si formano in conseguenza di infezioni precedenti da coronavirus stagionali, o in seguito alla vaccinazione antinfluenzale.*¹³

Autoimmunity as the comet tail of COVID-19 pandemic.
World J Clin Cases. 2020;8(17):3621-3644. doi:10.12998/wjcc.v8.i17.3621
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7479552/>

¹² Wen J, Cheng Y, Ling R, et al.
Antibody-dependent enhancement of Coronavirus
[published online ahead of print, 2020 Sep 10]. Int J Infect Dis. 2020;100:483-489.
doi:10.1016/j.ijid.2020.09.015
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7483033/>

Roncati L, Palmieri B.
What about the original antigenic sin of the humans versus SARS-CoV-2?
Med Hypotheses. 2020;142:109824. doi:10.1016/j.mehy.2020.109824
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7204740/>

Yang L, Liu S, Liu J, et al.
COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics.
Signal Transduct Target Ther. 2020;5(1):128. Published 2020 Jul 25. doi:10.1038/s41392-020-00243-2
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7381863/>

¹³ Cegolon L, Pichierrì J, Mastrangelo G, et al.
Hypothesis to explain the severe form of COVID-19 in Northern Italy.
BMJ Glob Health. 2020;5(6):e002564. doi:10.1136/bmjgh-2020-002564
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7295427/>

In questi casi lo sviluppo della malattia respiratoria acuta coincide con la sierconversione IgG antivirale.

Dal punto di vista del meccanismo d'induzione del danno, **le complicazioni gravi/fatali associate all'infezione da SARS-Cov-2 possono essere considerate una conseguenza dell'ADE.**

L'ADE spiega perché sono a maggior rischio gli anziani rispetto ai bambini e gli adulti sani, in quanto possiedono una quantità maggiore di anticorpi non neutralizzanti provenienti da infezioni da coronavirus o da vaccinazioni meno recenti, e presentano un sistema immunitario poco efficiente nel combattere le infezioni.

Sono suscettibili al potenziamento della malattia anche le **donne in gravidanza** e i **neonati sotto l'anno di età**, in caso di reinfezione.

Il siero iperimmune e le IVIG sono efficaci nel trattamento dei malati COVID-19 perché gli anticorpi trasfusi sono in grado di bloccare l'ingresso degli immunocomplessi virali nelle cellule del sistema immunitario. ¹⁴

L'ADE è un fattore di rischio importante per le vaccinazioni contro il COVID-19 ¹⁵ e l'influenza ¹⁶, a causa dell'elevata variabilità dei virus che può predisporre alla produzione di anticorpi non neutralizzanti.

¹⁴ Rojas M, et al.

Convalescent plasma in Covid-19: Possible mechanisms of action
Autoimmun Rev. 2020;102554. doi:10.1016/j.autrev.2020.102554
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7198427/>

¹⁵ Lee WS, Wheatley AK, Kent SJ, DeKosky BJ.

Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies.
Nat Microbiol. 2020 Oct;5(10):1185-1191. doi: 10.1038/s41564-020-00789-5. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32908214.
<https://www.nature.com/articles/s41564-020-00789-5>

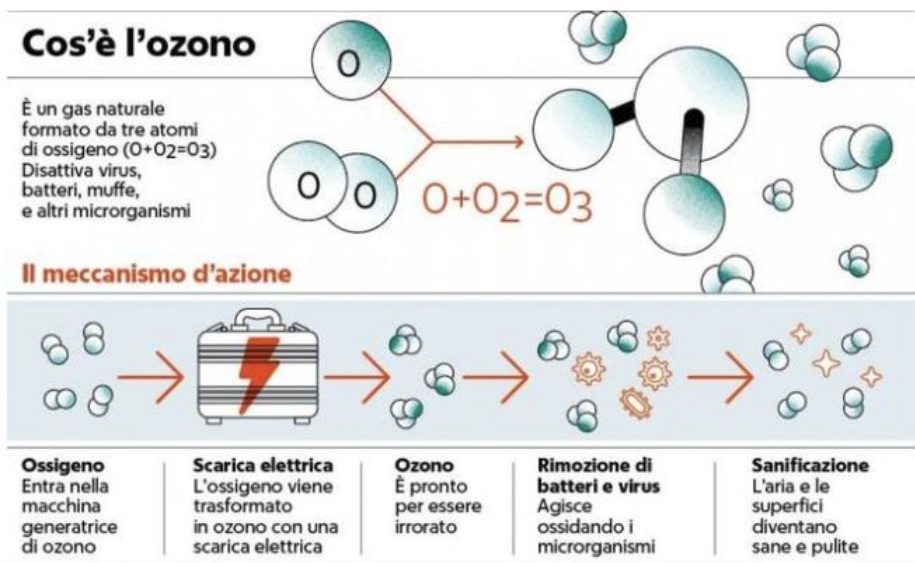
¹⁶ Rajão DS, Chen H, Perez DR, Sandbulte MR, Gauger PC, Loving CL, Shanks GD, Vincent A.

Vaccine-associated enhanced respiratory disease is influenced by haemagglutinin and neuraminidase in whole inactivated influenza virus vaccines.
J Gen Virol. 2016 Jul;97(7):1489-1499. doi: 10.1099/jgv.0.000468. Epub 2016 Mar 31. PMID: 27031847.
<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000468#tab2>

Sanificazione degli ambienti

Per quanto riguarda la sanificazione verranno approfonditi l'ozonizzazione e l'utilizzo di microrganismi fermentativi.

L'OZONIZZAZIONE



Fonte: Rielaborazione dati Rsalute

Per l'uso dell'ozono per la sanificazione degli ambienti si rimanda al materiale gentilmente messo a disposizione dal Dr. Vincenzo Simonetti, esperto di ozonoterapia e membro AMPAS ¹⁷ e a documenti redatti da altri enti in merito all'impiego in strutture non sanitarie quali

¹⁷ CV dott. Vincenzo Simonetti
<https://www.promosalus.it/vincenzo-simonetti-curriculum/>

https://rinascimentoitalia.it/wp-content/uploads/2020/10/Ozonoterapia_Dr-Simonetti.pdf

- il [“Rapporto ISS COVID-19 • n. 25/2020 Raccomandazioni ad interim sulla sanificazione di strutture non sanitarie nell’attuale emergenza COVID-19: superfici, ambienti interni e abbigliamento Gruppo di Lavoro ISS Biocidi COVID-19 Versione del 15 maggio 2020”](#) e [“Focus on: utilizzo professionale dell’ozono anche in riferimento a COVID-19 Versione del 23 luglio 2020 Gruppo di lavoro ISS-INAIL”](#) ¹⁸,
 - [“Considerazioni normative e tecniche sui servizi di sanificazione mediante l’impiego dell’ozono durante la pandemia Sars-Cov-2 \(Covid19\). ANID 25.05.2020”](#) ¹⁹
- È da notare che l’EPA non ha inserito l’ozono tra i prodotti utili per la sanificazione ²⁰, e che l’ISS non lo suggerisce per l’uso domestico.

Si riporta di seguito la valutazione tecnico-scientifica (pag.12-14 Rapporto ISS Covid-19) redatta a Maggio 2020:

“L’attività virucida dell’ozono si esplica rapidamente in seguito a ozonizzazione. Come per molti altri prodotti usati nella disinfezione, non esistono informazioni specifiche sull’efficacia contro il SARS COV- 2. Di contro sono disponibili diversi studi che ne supportano l’efficacia virucida (Norovirus) in ambienti sanitari e non. Anche a basse concentrazioni, con elevata umidità, l’ozono ha una elevata azione disinfettante virucida in aria. L’*International Ozone Association* (www.iao-pag.org) conferma l’efficacia dell’ozono per l’inattivazione di molti virus anche se non è a conoscenza di ricerche specifiche su SARS-CoV-2. A livello industriale, l’ozono viene generato *in situ* mediante ozonizzatori, che devono essere adattati di volta in volta in relazione agli spazi (dimensioni, materiali coinvolti) e ai *target*. I generatori di ozono devono essere conformi alle direttive su bassa tensione (Direttiva 2014/35/CE), compatibilità elettromagnetica (Direttiva 2014/30/CE) e Direttiva 2011/65/CE (RoHS) sulla restrizione di sostanze pericolose. L’ozono è un gas instabile e decade spontaneamente a ossigeno. Il tempo necessario per il decadimento dell’ozono, dipende da temperatura, umidità e contaminazione chimica e biologica, ed è sempre in funzione delle concentrazioni di utilizzo.

¹⁸ https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+25_2020.pdf/90decdd1-7c29-29e4-6663-b992e1773c98?t=1589836083759

https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+56_2020.pdf/6be24ac7-d084-2f51-feb0-7ea0957e5781?t=1595858146906

¹⁹ <https://www.ciip-consulta.it/attachments/article/1166/anid%20ozono%20Covid19.pdf>

²⁰ <https://cfpub.epa.gov/giwiz/disinfectants/index.cfm>

<https://www.epa.gov/coronavirus/will-ozone-generator-protect-me-and-my-family-covid-19>

In condizioni reali il tempo di decadimento naturale necessario per rendere accessibili i locali è di almeno 2 ore. Se possibile, è preferibile eseguire i trattamenti nelle ore notturne in modo che alla ripresa del lavoro la quantità di ozono ambientale si trovi entro i limiti di sicurezza sanitaria.

Evitare di eliminare l'ozono residuo ricorrendo alla ventilazione forzata per convogliarlo in ambiente esterno: il DL.vo 155/2010 fissa valori limite e obiettivi di qualità anche per le concentrazioni nell'aria ambiente di ozono.

Sulla base della normativa CLP e REACH i registranti hanno classificato, in regime di autoclassificazione, l'ozono come: sostanza che può provocare o aggravare un incendio; letale se inalata, provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari, provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta per via inalatoria, molto tossica per l'ambiente acquatico con effetti di lunga durata.

Alcuni notificanti identificano l'ozono come sospetto mutageno. Le autorità competenti tedesche hanno manifestato nel 2016 a ECHA l'intenzione di proporre per l'ozono una classificazione ed etichettatura armonizzate anche come mutageno di categoria 2 e cancerogeno di categoria 2. ¹

Il rischio ambientale, in seguito all'utilizzo di ozono per il trattamento delle superfici, appare al momento trascurabile, considerata l'elevata percentuale di ozono normalmente presente nell'atmosfera.

In conformità alle norme HACCP ² e al DL.vo 81/2008, in assenza di valori adottati nel quadro normativo Italiano, gli operatori devono rispettare i TLV –TWA dell'ACGIH ³ di seguito riportati, in relazione a carico di lavoro e durata cumulativa dell'esposizione:

- TLV – TWA (8 ore), 0,05 ppm (0,1 mg/m³), *lavoro pesante*;
- TLV – TWA (8 ore), 0,08 ppm (0,16 mg/ m³), *lavoro moderato*;
- TLV – TWA (8 ore), 0,10 ppm (0,2 mg/m³), *lavoro leggero*;
- TLV – TWA (≤ 2 ore), 0,2 ppm (0,39 mg/m³), *frazioni di lavoro leggero, moderato o pesante*.

Considerato che a concentrazioni inferiori a 2 ppm, l'ozono ha un odore caratteristico piacevole, che diventa pungente e irritante a livelli superiori, e che è riconoscibile già a concentrazioni molto ridotte (0,02 e 0,05 ppm), i soggetti potenzialmente esposti sono preavvertiti rispetto al raggiungimento di concentrazioni elevate e potenzialmente dannose per la salute. L'odore non costituisce, comunque, un indice attendibile della concentrazione presente nell'aria per fenomeni di assuefazione.

Le Linee guida dell'OMS per la qualità dell'aria *outdoor* (2005) raccomandano un limite giornaliero di 100 µg/m³ (ca. 0,05 ppm).

Il *National Institute for Occupational and Safety Health* (NIOSH) indica per l'ozono un valore IDLH (concentrazione immediatamente pericolosa per la vita o per la salute) di 5 ppm (10 mg/m³) e livelli di concentrazione simili al valore IDLH o maggiori sono di fatto raggiunti nelle condizioni di utilizzo.

In generale, deve essere evitata la pratica di rientrare nelle aree trattate dopo un determinato periodo di tempo dalla fine dell'ozonizzazione.

L'uso dell'ozono deve avvenire in ambienti non occupati e debitamente confinati.

Per ridurre il rischio, possono essere predisposti dispositivi visivi in ogni punto di accesso degli ambienti in fase di trattamento e allo stesso modo possono essere predisposti segnalatori di libero accesso. Pertanto, prima di ricorrere all'utilizzo di tale sostanza per il trattamento di locali è necessario valutare il rischio di esposizione sia degli addetti alle operazioni di sanificazione sia del personale che fruisce dei locali sanificati. Gli operatori devono essere addestrati ed esperti e provvisti di idonei dispositivi di protezione individuale (DPI).

Alla luce di quanto sopra non è pertanto indicato per uso domestico.

L'assenza di dati specifici con i test previsti per dimostrare l'efficacia come disinfettante biocida è comune a diversi disinfettanti ad oggi in commercio, sia come PMC che come Biocidi, per i quali non sono disponibili dati sull'efficacia contro il SARS-CoV-2.

Un singolo studio, ad oggi, ha valutato l'effetto di alcuni disinfettanti specificamente sul virus SARS-CoV-2 in sospensione, rilevando come tutti quelli saggiati – la candeggina (ipoclorito di sodio) a uso domestico a varie diluizioni, l'etanolo al 70%, il povidone iodio al 7,5%, la clorexidina allo 0,05% e il cloruro di benzalconio allo 0,1% – rendessero il virus non rilevabile dopo 5 minuti di incubazione.²¹

¹ Il Registro delle Intenzioni (RoI), gestito da ECHA e disponibile pubblicamente sul sito web dell'Agenzia contiene informazioni delle parti che intendono presentare all'Agenzia un fascicolo per l'armonizzazione della classificazione e dell'etichettatura (<https://www.echa.europa.eu/it/web/guest/registry-of-clh-intentions-until-outcome/-/dislist/details/0b0236e180dfd06a>)

² HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points*) è un sistema che consente di applicare l'autocontrollo per garantire la sicurezza degli alimenti in tutte le fasi della catena alimentare

³ TLV - TWA (*Threshold Limit Value - Time Weighted Average*): Valore Limite per esposizioni prolungate nel tempo, detto anche Valore Limite ponderato. Rappresenta la concentrazione media, ponderata nel tempo, degli inquinanti presenti nell'aria degli ambienti di lavoro nell'arco dell'intero turno lavorativo ed indica il livello di esposizione al quale si presume che, allo stato delle attuali conoscenze scientifiche, il lavoratore

²¹ Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, et al.

Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions.

Lancet Microbe. 2020;1(1):e10. doi:10.1016/S2666-5247(20)30003-3

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7214863/>

possa essere esposto 8 ore al giorno, per 5 giorni alla settimana, per tutta la durata della vita lavorativa, senza risentire di effetti dannosi per la salute.

È dimostrato che i virus con involucro come i coronavirus sono più sensibili dei virus senza involucro a causa dell'interazione dell'ozono con lo strato lipidico.

È stato riportato che un'alta concentrazione di 27,73 ppm di ozono è in grado di inattivare il SARS-CoV-1 in 4 min. Anche le concentrazioni medie (17,82 ppm) e basse (4,86 ppm) potrebbero inattivare SARS-Cov-1 con velocità ed efficacia diverse.

In un altro studio, la massima efficacia antivirale dell'ozono ha richiesto un breve periodo di elevata umidità (> 90% di umidità relativa) dopo il raggiungimento della concentrazione massima di ozono (20-25 ppm). Il coronavirus del topo (MCoV) su diverse superfici (vetro, plastica e acciaio inossidabile) e in presenza di fluidi biologici è stato inattivato dall'ozono di almeno 3 log₁₀ in laboratorio e in prove simulate sul campo.²²

Per quanto riguarda il SARS-Cov-2, va segnalato un importante studio pubblicato dalla Nara Medical University (Giappone).²³ Il gruppo di ricerca ha dimostrato che ad una esposizione di 55 minuti per una concentrazione di ozono di 6 ppm, si è verificata una inattivazione del virus in coltura da 1/1000 a 1/10,000, e con una esposizione di 60 minuti per una concentrazione di ozono di 1 ppm si è verificata una inattivazione del virus da 1/10 a 1/100.

Già da alcuni anni l'ozonizzazione ambientale a basse concentrazioni, in presenza umana, è usata in 2 scuole di Bergamo, negli uffici della Multiossigen di Gorle (BG) ed in diversi studi medici.

Ne segue che l'ozonizzazione può considerarsi una tecnica efficace anche per il SARS-Cov-2 con le dovute precauzione descritte sopra per l'uso. Nonostante l'ISS ne sconsigli l'uso domestico, va detto che sono disponibili sul mercato diversi [generatori di ozono gassoso](#)²⁴ e di [acqua ozonizzata](#).²⁵ Va posta molta attenzione nella valutazione della qualità quando si sceglie l'apparecchiatura per l'acquisto perché la pandemia ha

²² Dev Kumar G, Mishra A, Dunn L, et al. Biocides and Novel Antimicrobial Agents for the Mitigation of Coronaviruses. Front Microbiol. 2020;11:1351. Published 2020 Jun 23. doi:10.3389/fmicb.2020.01351 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7324725/>

²³ <https://www.vastfast.it/it/news/confermata-inattivazione-del-nuovo-coronavirus-tramite-ozono>

²⁴ <https://www.domoticafull.it/miglior-generatore-di-ozono/>
<https://www.articoitaly.com/wp-content/uploads/schedetecniche/ArticOzono.pdf>

²⁵ <https://www.sanitiesystem.it/benefici-dell-acqua-ozonizzata/>
<http://www.abioconsulting.it/acqua-ozonizzata-cosa-e-chi-e-come-si-puo-utilizzare/#page-content>

aumentato notevolmente le richieste e sono in commercio anche prodotti non controllati rischiosi per la salute. Per le specifiche tecniche si rimanda ai link citati.

Per concludere si riassume di seguito l'attività biocida e tossica dell'ozono.

Se utilizzato in modo corretto è uno dei più potenti ossidanti in natura: battericida, virucida, antimicotico/antifungino (lieviti, muffe/funghi, spore) e contro microrganismi come l'acaro, con un potenziale di ossidazione (2,07) ben superiore a quello del cloro (1,36).

ORGANISMO	CONCENTRAZIONE	TEMPO DI ESPOSIZIONE
BATTERI (<i>E. Coli, Legionella, Mycobacterium, Fecal Streptococcus</i>)	0,23 ppm - 2,2 ppm	< 20 minuti
VIRUS (<i>Poliovirus type-1, Human Rotavirus, Enteric virus</i>)	0,2 ppm - 4,1 ppm	< 20 minuti
MUFFE (<i>Aspergillus Niger, vari ceppi di Penicillium, Cladosporium</i>)	2ppm	60 minuti
FUNGHI (<i>Candida Parapsilosis, Candida Tropicalis</i>)	0,02 ppm - 0,26 ppm	< 1,67 minuti
INSETTI (<i>Acarus Siro, Tyrophagus Casei, Tyrophagus Putrescentiae</i>)	1,5 - 2 ppm	30 minuti?

Inattivazione di batteri, virus, funghi, muffe ed insetti in seguito ad ozonizzazione

(**Fonti:** Edelstein et al., 1982; Joret et al., 1982; Farooq and Akhlaque, 1983; Harakeh and Butle, 1985; Kawamura et al. 1986)

Se si soggiorna a lungo in una stanza con una percentuale di ozono troppo alta si potrebbero avere sintomi gravi e anche intossicazione.

ATTENZIONE: Utilizzare i generatori di ozono che si trovano in rete senza misurare la concentrazione di ozono potrebbe essere pericoloso.

EFFETTI TOSSICI dell'OZONO per l'UOMO

CONCENTRAZIONE (ppm O₃)

di odore acre e pungente (AGLIASTRO) è percepibile già alla concentrazione di **0,02 ppm**

Effetti tossici per l'UOMO

0,02-0,05	Percezione olfattiva
0,4-0,5	Bruciore alle prime vie aeree
0,8 – 1	Lacrimazione, tosse
2	Nausea, cefalea, vomito
5	Broncocostrizione Edema Polmonare
10	Letale per edema polmonare dopo 4 ore di esposizione
50	Letale dopo alcuni minuti di esposizione

IGIENE PROBIOTICA

La resistenza antimicrobica

La resistenza antimicrobica (AMR) si verifica quando batteri, virus, funghi e parassiti cambiano nel tempo e non rispondono più ai farmaci, rendendo le infezioni più difficili da trattare e aumentando il rischio di diffusione di malattie gravi e morte.

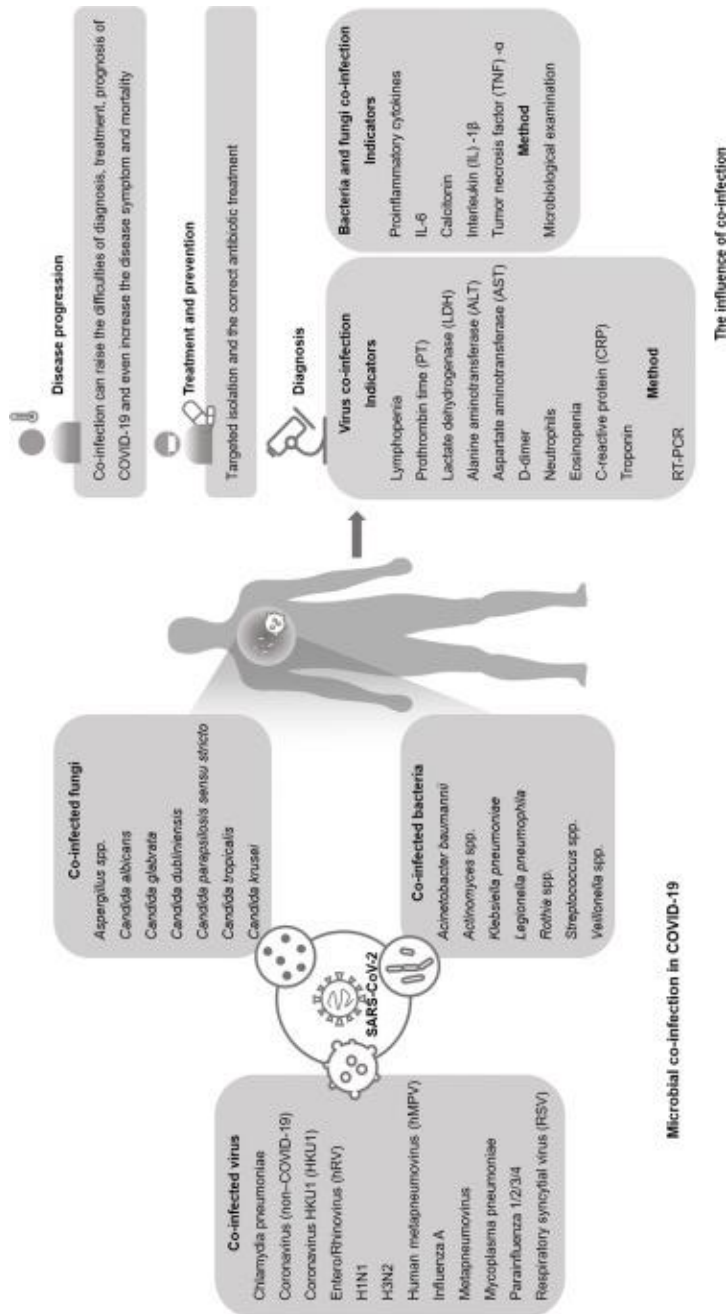
Attualmente l'AMR è diventata un'emergenza sanitaria molto grave e l'OMS scrive quanto segue: ²⁶

- La resistenza antimicrobica (AMR) è una minaccia globale per la salute e lo sviluppo. Richiede un'azione multisettoriale urgente per raggiungere gli obiettivi di sviluppo sostenibile (SDG).
- L'OMS ha dichiarato che la resistenza antimicrobica è una delle 10 principali minacce per la salute pubblica a livello mondiale che l'umanità deve affrontare.
- L'uso improprio e l'abuso di antimicrobici sono i principali motori nello sviluppo di agenti patogeni resistenti ai farmaci.
- La mancanza di acqua pulita e servizi igienici e la prevenzione e il controllo inadeguati delle infezioni favoriscono la diffusione di microbi, alcuni dei quali possono essere resistenti al trattamento antimicrobico.
- Il costo dell'AMR per l'economia è significativo. Oltre alla morte e alla disabilità, malattie prolungate si traducono in degenze ospedaliere più lunghe, nella necessità di medicinali più costosi e in sfide finanziarie per le persone colpite.
- Senza antimicrobici efficaci, il successo della medicina moderna nel trattamento delle infezioni, anche durante interventi chirurgici importanti e chemioterapia antitumorale, è maggiormente a rischio.

Le infezioni batteriche trattate senza successo a causa della resistenza antimicrobica causano almeno 700.000 vite all'anno in tutto il mondo e si prevede che saranno associate alla morte di 10 milioni di persone all'anno entro il 2050. ²⁷

²⁶ <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

²⁷ [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR Review Paper - Tackling a crisis for the health and wealth of nations_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf)



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7417782/>

Studi condotti in ospedali italiani mostrano un'incidenza del 5-10% con un tasso di mortalità fino al 20-30%.²⁸

Sebbene gli antibiotici siano inefficaci per il trattamento del COVID-19, sono prescritti a pazienti con COVID-19 sospetto o documentato per una serie di motivi. Ciò include la difficoltà nell'escludere la coinfezione batterica alla presentazione, ma anche la possibilità di infezione secondaria batterica durante il corso della malattia.

Da una metanalisi recente, risulta che nei pazienti con COVID-19 la coinfezione è stata riscontrata nel 3,5% dei casi (95% CI: 0,4-6,7%) e l'infezione secondaria nel 14,3% (95% CI: 9,6-18,9%). Nel complesso, l'infezione batterica riportata è stata del 6,9% (95% CI 4,3-9,5%) ma variava leggermente in base alla popolazione dei pazienti, variando dal 5,9% nei pazienti ospedalizzati all'8,1% nei pazienti critici.²⁹ Superinfezioni di batteri resistenti agli antibiotici si verificano nell'1,3% dei pazienti in terapia intensiva e nello 0% in quelli non in terapia intensiva.³⁰

Da uno studio svolto a Wuhan è stata segnalata un'infezione secondaria nel 50% dei deceduti e solo nell'1% dei sopravvissuti.³¹

²⁸ http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2791_allegato.pdf

Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, et al.

Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis.

Lancet Infect Dis. 2019;19(1):56-66. doi:10.1016/S1473-3099(18)30605-4

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6300481/>

²⁹ Langford BJ, So M, Raybardhan S, Leung V, Westwood D, MacFadden DR, Soucy JR, Daneman N.

Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis.

Clin Microbiol Infect. 2020 Jul 22:S1198-743X(20)30423-7. doi: 10.1016/j.cmi.2020.07.016. Epub ahead of print. PMID: 32711058.

[https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(20\)30423-7/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(20)30423-7/fulltext)

Chen X, Liao B, Cheng L, et al.

The microbial coinfection in COVID-19.

Appl Microbiol Biotechnol. 2020;104(18):7777-7785. doi:10.1007/s00253-020-10814-6

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7417782/>

³⁰ Fattorini L, Creti R, Palma C, Pantosti A;

Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens; Unit of Antibiotic Resistance and Special Pathogens of the Department of Infectious Diseases, Istituto Superiore di Sanità, Rome.

Bacterial coinfections in COVID-19: an underestimated adversary.

Ann Ist Super Sanita. 2020 Jul-Sep;56(3):359-364. doi: 10.4415/ANN_20_03_14. PMID: 32959802.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32959802/>

³¹ Zhou F, Yu T, Du R, et al.

Uno studio più recente effettuato su 19 pazienti ricoverati in terapia intensiva per circa 15 giorni, trattati mediante ventilazione invasiva, con un'età media di circa 67 anni, e con più patologie, ha riportato risultati più gravi: tutti i pazienti sono stati trovati positivi ad infezioni batteriche antibioticoresistenti (90% *Acinetobacter baumannii* e 10% *Staphylococcus aureus*) e di questi pazienti il 95% è deceduto.³² Va ricordato che una delle cause dei decessi dei pazienti in ICU è la polmonite associata alla ventilazione, descritta anche per i casi COVID-19 e che l'infezione con patogeni farmacoresistenti aumenta l'incidenza della mortalità.³³

Ne segue che nonostante un tasso complessivo basso di infezioni batteriche (tranne per i pazienti ventilati in ICU per un lungo periodo), oltre il 70% dei pazienti ha ricevuto antibiotici, con la maggioranza costituita da agenti ad ampio spettro come fluorochinoloni e cefalosporine di terza generazione e questo approccio solleva preoccupazioni per un uso eccessivo di antibiotici e il conseguente danno associato alla resistenza batterica.²⁷

Inoltre, è noto che le superfici ospedaliere sono contaminate da molti microorganismi che possono contribuire alla trasmissione delle infezioni correlate all'assistenza (ICA) e che il controllo della contaminazione superficiale viene realizzato mediante sanificazione convenzionale a base di sostanze chimiche, la quale però è limitata dal fatto che non può prevenire il fenomeno della ricontaminazione (per gran parte dei disinfettanti entro 60 min)³⁴, ha un elevato impatto ambientale e può contribuire alla

Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study

[published correction appears in Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1038] [published correction appears in Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1038]. Lancet. 2020;395(10229):1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7270627/>

³² Sharifipour E, Shams S, Esmkhani M, et al. Evaluation of bacterial co-infections of the respiratory tract in COVID-19 patients admitted to ICU. BMC Infect Dis. 2020;20(1):646. Published 2020 Sep 1.

doi:10.1186/s12879-020-05374-z

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7461753/>

³³ Póvoa HCC, Chianca GC, Iorio NLPP. COVID-19: An Alert to Ventilator-Associated Bacterial Pneumonia. Infect Dis Ther. 2020;9(3):417-420. doi:10.1007/s40121-020-00306-5

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7260454/>

³⁴ Hota B.

Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection?

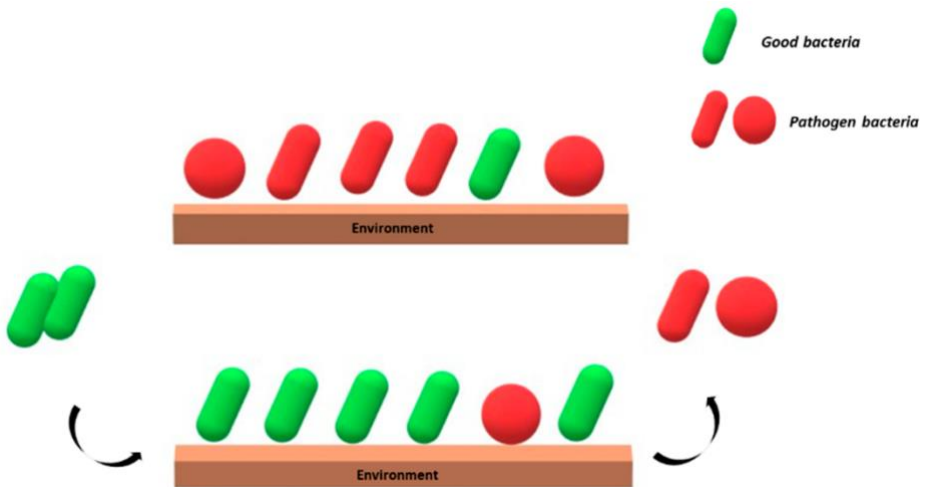
Clin Infect Dis. 2004;39(8):1182-1189. doi:10.1086/424667

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7107941/>

selezione di patogeni resistenti ai disinfettanti stessi³⁵ e agli antibiotici e quindi anche all'insorgenza di patogeni farmaco-resistenti associati alle ICA.³⁶

Il Probiotic Cleaning Hygiene System (Igiene Probiotica)

Recentemente il concetto di "salute" delle superfici ospedaliere è stato ripensato utilizzando l'approccio per la salute del corpo umano, dove è noto che piuttosto che eliminare tutti i microbi, per il mantenimento della salute è più efficace utilizzare microbi benefici in grado di spiazzare e sostituire quelli patogeni, con il noto meccanismo dell'antagonismo competitivo.



<https://www.mdpi.com/1422-0067/20/7/1535/htm>

Rappresentazione schematica del principio "Bygiene" (igiene bidirezionale). I batteri buoni (verdi) introdotti dall'esterno contrastano la colonizzazione dell'ambiente da parte di potenziali patogeni (rosso).

³⁵ Wand ME, Bock LJ, Bonney LC, Sutton JM.

Mechanisms of Increased Resistance to Chlorhexidine and Cross-Resistance to Colistin following Exposure of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates to Chlorhexidine.

Antimicrob Agents Chemother. 2016;61(1):e01162-16. Published 2016 Dec 27. doi:10.1128/AAC.01162-16
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5192135/>

³⁶ Neubeiser A, Bonsignore M, Tafelski S, Alefelder C, Schwegmann K, Rüdén H, Geffers C, Nachtigall I.

Mortality attributable to hospital acquired infections with multidrug-resistant bacteria in a large group of German hospitals.

J Infect Public Health. 2020 Feb;13(2):204-210. doi: 10.1016/j.jiph.2019.07.025. Epub 2019 Aug 13. PMID: 31420314.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034119302606?via%3Dihub>

In questa direzione, è stato studiato un approccio di sanificazione basato su detergenti contenenti spore di batteri probiotici del genere *Bacillus* (Probiotic Cleaning Hygiene System, PCHS), mostrando che è sicuro per i pazienti ospedalizzati e può diminuire in modo stabile i patogeni superficiali resistenti fino al 99.9% rispetto ai disinfettanti convenzionali senza incrementare i costi della sanificazione.³⁷

L'Università di Ferrara ha condotto studi in più ospedali per testare l'efficacia del PCHS, e lo studio pubblicato nel 2019 su *Infect Drug Resist* svolto nei reparti di medicina interna di 6 ospedali pubblici italiani per 18 mesi ha permesso di dimostrare che i bacilli probiotici possono competere e sostituire i patogeni preesistenti, limitando la colonizzazione e la diffusione di nuovi microorganismi potenzialmente patogeni e portatori di farmaco-resistenze. In particolare il PCHS è stato in grado di ridurre e rimodulare la contaminazione ambientale per antagonismo competitivo, inducendo una significativa diminuzione (-83%) della carica patogena superficiale complessiva e dei geni di resistenza presenti nel microbiota delle superfici (fino a 2 Log).³⁸

³⁷ <https://pchs.it/video/>

https://www.camera.it/application/xmanager/projects/leg18/attachments/upload_file_doc_acquisiti/pdfs/000/002/000/Professoressa_Caselli_04.07.2019_.docx

³⁸ <https://pchs.it/en/our-researches/publications/>

Caselli E, Brusaferro S, Coccagna M, et al.

Reducing healthcare-associated infections incidence by a probiotic-based sanitation system: A multicentre, prospective, intervention study.

PLoS One. 2018;13(7):e0199616. Published 2018 Jul 12. doi:10.1371/journal.pone.0199616

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6042698/>

RIDUZIONE DELL'INCIDENZA DI INFEZIONI CORRELATE ALL'ASSISTENZA MEDIANTE UN SISTEMA DI SANIFICAZIONE A BASE DI PROBIOTICI: RISULTATI DI UNO STUDIO DI INTERVENTO PROSPETTICO MULTICENTRICO

https://pchs.it/wp-content/uploads/2020/08/2019_PubblicazioneScientifica_PlosOne_CIAS.pdf

Caselli E, Arnoldo L, Rognoni C, et al.

Impact of a probiotic-based hospital sanitation on antimicrobial resistance and HAI-associated antimicrobial consumption and costs: a multicenter study. *Infect Drug Resist*. 2019;12:501-510. Published 2019 Feb 27. doi:10.2147/IDR.S194670

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6398408/>

Tarricone R, Rognoni C, Arnoldo L, Mazzacane S, Caselli E.

A Probiotic-Based Sanitation System for the Reduction of Healthcare Associated Infections and Antimicrobial Resistances: A Budget Impact Analysis.

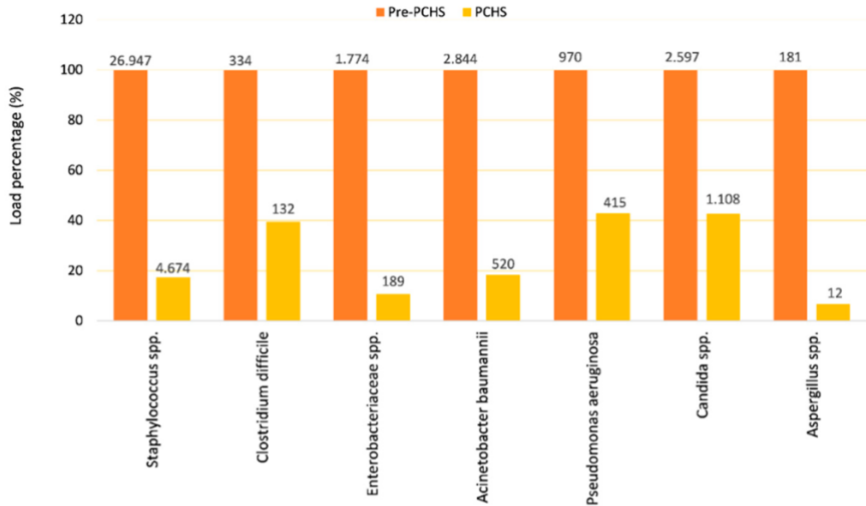
Pathogens. 2020;9(6):502. Published 2020 Jun 23. doi:10.3390/pathogens9060502

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7350316/>

D'Accolti M, Soffritti I, Mazzacane S, Caselli E.

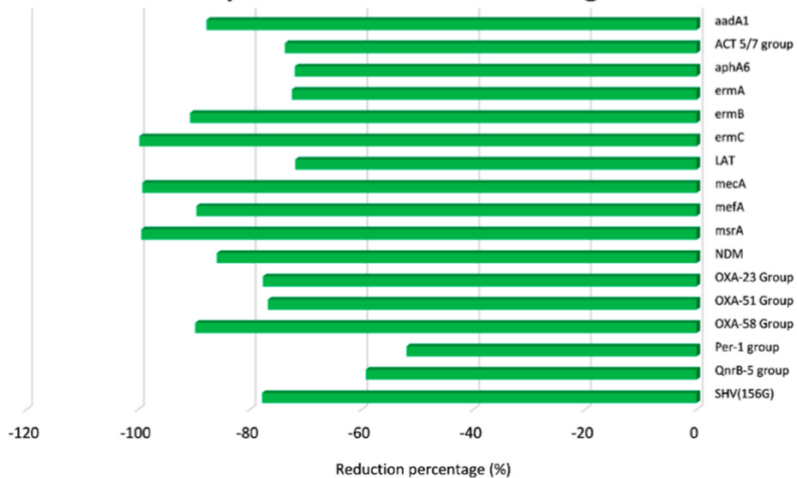
Fighting AMR in the Healthcare Environment: Microbiome-Based Sanitation Approaches and Monitoring Tools.

(a) **PCHS impact on surface pathogens**



(b)

PCHS impact on antibiotic resistance genes



<https://www.mdpi.com/1422-0067/20/7/1535/htm>

Int J Mol Sci. 2019;20(7):1535. Published 2019 Mar 27. doi:10.3390/ijms20071535
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6479322/>

Effetto del Probiotic Cleaning Hygiene System (PCHS) sulla contaminazione microbica e sulle sue caratteristiche di resistenza antimicrobica (AMR) sulle superfici ospedaliere. (a) Sei patogeni associati alle infezioni associate all'assistenza sanitaria (HAI) sono stati misurati dal conteggio della Colony Forming Unit (CFU) sulle superfici ospedaliere di cinque ospedali italiani prima e dopo l'introduzione del PCHS; la carica microbica è espressa in percentuale per ogni singolo patogeno analizzato (vengono visualizzati anche i valori medi per m²); (b) il resistoma della popolazione microbica contaminante è stato analizzato mediante microarray qPCR prima e dopo l'introduzione di PCHS; vengono riportati i geni di resistenza agli antibiotici più prevalenti ed espressi come riduzione percentuale dei geni durante la fase PCHS rispetto alla fase pre-PCHS.

I microorganismi effettivi

Questo approccio valido per le strutture ospedaliere, in cui la carica batterica è significativa, può essere impiegato anche per le pulizie casalinghe e la sanificazione dei capi di abbigliamento con l'uso di prodotti commerciali reperibili facilmente sul mercato, messi a punto dal dott. Teruo Higa, a base di microorganismi fermentativi detti anche **Microorganismi Effettivi** o EM, di cui si tratterà ancora in seguito nel paragrafo dei probiotici.

Lo studio degli EM è iniziato negli anni '80, in Giappone, con la produzione di miscele di microrganismi benefici provenienti da suoli di alto pregio per il trattamento degli ambienti contaminati e per migliorare la fertilità dei suoli.

Queste miscele contengono una grande diversità di microrganismi probiotici, normalmente presenti in natura, appartenenti principalmente ai gruppi di lattobacilli, lieviti e batteri della fotosintesi che coesistono in simbiosi in soluzione liquida.

La grande varietà presente in questa miscela la rende estremamente versatile e idonea a riequilibrare gli ambienti consentendo il recupero dei meccanismi biologici di contrasto alle contaminazioni chimiche e biologiche.³⁹

Per un approfondimento sulla composizione degli EM e la modalità d'uso in agricoltura, salute umana e animale e la sanificazione si rimanda ai siti dei rivenditori.⁴⁰

³⁹ https://embio.it/media/wysiwyg/microrganismi-efficaci/Sanificazione_con_EM.pdf

⁴⁰ La lista dei rivenditori potrebbe non essere completa
<https://www.pulitenszachimica.com/articoli/approfondimenti-sugli-em/>
<https://em-ita.com/pages/cosa-sono-gli-em>
http://www.italiaem.it/Applicazioni_EM/pulizia_casa.html
http://microrganismi-efficaci.it/media/wysiwyg/microrganismi-efficaci/EM_in_casa.pdf
<https://emipiace.it/cose-em-la-scoperta/>
<https://emagea.it/casa-ambiente-pipes/>

Effetti antivirali e uso per contrastare l'infezione da SARS-Cov-2

Gli effetti antivirali delle miscele EM sono stati osservati già nel 2009 durante l'influenza suina, nel 2011 sull'afra epizootica in Corea e sul virus H5N1 dell'influenza aviaria, nel 2013 sull'herpes simplex e nel 2014 sono stati ottenuti risultati positivi con gli EM nel controllo dei virus influenzali, riportati negli atti di una conferenza della Japanese Society for Virology.⁴¹

Come è emerso dagli atti del convegno “Azioni di contrasto alle ICA e all'antibiotico-resistenza nell'emergenza COVID-19”, tenutosi presso l'Università Cattolica del Sacro Cuore, campus di Roma il 24 settembre,⁴² per gli esperti l'emergenza COVID-19, con l'uso massivo in questi mesi di antibiotici e disinfettanti, avrà un impatto devastante sui fenomeni di antibiotico-resistenza. Secondo la prof.ssa Caselli l'impiego della sanificazione biologica nell'arco di 5 anni permetterebbe di evitare circa 31.000 infezioni ospedaliere e di risparmiare almeno 14 milioni di euro (11 dei quali per il trattamento delle infezioni antibiotico-resistenti), e la prossima frontiera, per rendere sempre più efficiente questa modalità di sanificazione è rappresentata dall'uso di batteriofagi litici (I batteriofagi, o fagi, sono virus che infettano i batteri, provocando comunemente la morte della cellula batterica ospite).⁴³

Questo importante approccio di sanificazione è stato utilizzato a marzo 2020 in Corea presso il centro tecnologico agricolo di Busan Gijang-Gun per prevenire la diffusione di

⁴¹ Sairenji, Fujii, Higa et al

Influenza virus inactivation by effective micro-organisms fermented liquid (EM1)
62nd Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Yokohama , 2014.

⁴²<https://www.policinicogemelli.it/en/news-events/lotta-alle-infezioni-ospedaliere-e-allantibiotico-resistenza-la-ricetta-del-gemelli/>

<https://embio.it/news/video-microrganismi-fagi-igiene-caselli/>
<https://youtu.be/CPTGYi5I4d0>

⁴³ D'Accolti M, Soffritti I, Piffanelli M, Bisi M, Mazzacane S, Caselli E.

Efficient removal of hospital pathogens from hard surfaces by a combined use of bacteriophages and probiotics: potential as sanitizing agents

[published correction appears in Infect Drug Resist. 2018 Sep 20;11:1521]. Infect Drug Resist. 2018;11:1015-1026. Published 2018 Jul 30. doi:10.2147/IDR.S170071

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6071622/>

D'Accolti M, Soffritti I, Lanzoni L, et al.

Effective elimination of Staphylococcal contamination from hospital surfaces by a bacteriophage-probiotic sanitation strategy: a monocentric study.

Microb Biotechnol. 2019;12(4):742-751. doi:10.1111/1751-7915.13415

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6559196/>

nuove infezioni da SARS-CoV-2.⁴⁴ L'efficacia antivirale è dovuta alla presenza dei lattobacilli e di acido citrico che mantengono la miscela EM prodotta dal centro ad un pH di 3,5. Infatti sia il pH fortemente acido 45 che i lattobacilli 46 inibiscono completamente la replicazione del virus.

Anche il distretto di Gwanak, a Seoul, Corea del Sud, ha offerto a fine marzo una fornitura sperimentale di disinfezione a 200 famiglie con persone conviventi di età pari o superiore a 65 anni, registrati come disabili e situati nella zona sottoposta a quarantena. La disinfezione durante la quarantena è stata condotta utilizzando alcool e Microrganismi Efficaci (EM), certificati dal Ministero della Salute e del Benessere e dall'Agenzia per l'Ambiente (in Corea del Sud).⁴⁷

Per rafforzare la validità scientifica di questo approccio di sanificazione sono stati raccolti gli studi che riguardano le interazioni tra i microrganismi benefici e i virus in una [cartella consultabile qui](#).

Preparazione in casa degli EM:

La base della tecnologia EM è costituita da una **soluzione madre** stabile per circa un anno in cui i microrganismi efficaci non si replicano finché non vengono attivati, cioè vengono fatti fermentare a circa 37°C per 7-10 giorni in presenza di zucchero di canna o melassa; in questo modo si ottiene una soluzione denominata EMa (microorganismi efficaci attivati) che normalmente dura non oltre un mese.

EMA = EM-1® attivato e moltiplicato con melassa e acqua.

Ricetta: 3% EM1, 3% melassa di canna da zucchero, 94% acqua.

⁴⁴ <https://microrganismi-efficaci.it/news/cat/em/post/corea-em-prevenzione-coronavirus/>

⁴⁵ Chan KH, Sridhar S, Zhang RR, et al. Factors affecting stability and infectivity of SARS-CoV-2. *J Hosp Infect.* 2020;106(2):226-231. doi:10.1016/j.jhin.2020.07.009 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7343644/>

⁴⁶ Villena J, Kitazawa H. The Modulation of Mucosal Antiviral Immunity by Immunobiotics: Could They Offer Any Benefit in the SARS-CoV-2 Pandemic? *Front Physiol.* 2020;11:699. Published 2020 Jun 16. doi:10.3389/fphys.2020.00699 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7326040/>

⁴⁷ <https://microrganismi-efficaci.it/news/cat/em/post/disinfezione-em-corea/>

Esempi:

per 1 litro di EMA:30 ml EM-1*
30 ml melassa
940 ml acqua.**per 5 litri di EMA:**150 ml EM-1*
150 ml melassa
4.7 l acqua.**per 10 litri di EMA:**300 ml EM-1*
300 ml melassa
9.4 l acqua.

Sciogliere completamente 3% di melassa di canna in acqua molto calda (non oltre di 60°) e riempire un contenitore di plastica con coperchio, per esempio una bottiglia di PET, un bidone o un serbatoio. Riempire il contenitore con acqua. La temperatura del liquido non deve superare i 38 gradi. Per finire, aggiungere 3% di EM1. Il contenitore pieno e chiuso deve rimanere per 7-10 giorni in un luogo a temperatura 37°. Riscaldare l'ambiente se necessario. Il liquido non deve superare i 38°C. Ogni tanto aprire poco il contenitore per lasciare uscire il gas. L'EMA deve avere un valore di pH minore di 3.7 ed un odore leggermente acido. L'EMA fermentata deve essere conservata in un luogo scuro e fresco, meglio se in cantina. Durata della conservazione: circa 2 settimane. Non riprodurre EMA, altrimenti si modifica troppo sensibilmente la composizione dei microrganismi e la qualità stessa non è più garantita.⁴⁸

vedi anche: [Produzione di EMa](#)⁴⁹

[Manuale per la casa](#)

Dr.ssa Loretta Bolgan

Dottore in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche

Dottorato in Scienze Farmaceutiche

Consulente scientifico



⁴⁸ <https://www.emipiace.it/documenti/Cat.%20inform%20.%20e%20uso.pdf>

⁴⁹ http://microrganismi-efficaci.it/media/wysiwyg/microrganismi-efficaci/riproduzione_EMa.pdf