

Non tossicità

Test di laboratorio, evidenze, letteratura

DESTINATO AGLI OPERATORI



Scopo del documento

Il presente documento è una raccolta di evidenze scientifiche in merito alla sicurezza e non tossicità di Sanapur, PMC n. 20787

Indice generale

Scopo del documento.....	2
Introduzione - Caratteristiche del prodotto.....	3
Sicurezza, attenzione per la salute e per l'ambiente.....	3
Classificazione della sostanza secondo ECHA.....	3
Cos'è l'acido ipocloroso.....	3
Letteratura scientifica.....	4
Spray nasale a base di acido ipocloroso come adiuvante nella lotta contro il SARS-Cov-2.....	4
Studi effettuati sulla nebulizzazione.....	5
Hypochlorous Acid: A Review.....	5
Test di non tossicità effettuati su Sanapur.....	5
Test di citotossicità.....	6
Certificazioni di Sanapur.....	8
Biodizionario approved e VeganOk.....	8
Formazione sottoprodotti.....	9
Clorati e cloriti.....	9
Clorammine.....	11



Introduzione - Caratteristiche del prodotto

Sanapur è un Presidio Medico Chirurgico n. 20787

Sanapur è stato testato su *vaccinia virus* (virus con involucro) e lo ha inattivato in meno di 1 minuto.

**Sanapur è efficace contro i virus con involucro (Coronavirus).
E' quindi utile nella prevenzione del COVID-19**

Sanapur ha superato tutti i test di laboratorio per l'approvazione a Presidio Medico Chirurgico ed essere classificato come disinfettante.

A dispetto della bassa concentrazione di cloro libero, la sua azione battericida e virucida è molto alta; si è calcolato infatti che a parità di cloro libero, Sanapur ha una capacità ossidante fino a 300 volte più alta dell'ipoclorito di sodio.

Sanapur è un disinfettante naturale che non comporta alcun rischio per la salute umana e per l'ambiente. Sanapur si ottiene partendo da acqua e sale sottoposte ad elettrolisi con un determinato procedimento.

Sicurezza, attenzione per la salute e per l'ambiente

Ecocompatibile, completamente sicuro, non tossico e non irritante, Sanapur è il prodotto ideale nelle situazioni in cui i disinfettanti chimici non producono i risultati desiderati o non possono essere applicati.

I risultati dei test di laboratorio provano che Sanapur è un potente disinfettante, non tossico, che può essere una valida scelta per molte procedure di disinfezione.

Classificazione della sostanza secondo ECHA

L'**acido ipocloroso**, principio attivo di Sanapur, è stato recentemente approvato da ECHA come sostanza biocida **senza indicazioni di pericolo**.

"According to the majority of notifications provided by companies to ECHA in CLP notifications no hazards have been classified. "

Fonte: <https://echa.europa.eu/it/substance-information/-/substanceinfo/100.029.302>

Cos'è l'acido ipocloroso

L'acido ipocloroso è la sostanza prodotta e utilizzata dai globuli bianchi per difendere il nostro organismo dall'attacco di agenti patogeni esterni, quali virus e batteri.



E' quindi una sostanza altamente tossica per gli agenti patogeni, che viene prodotta dal nostro stesso organismo e (entro certi limiti) non è tossica per le cellule del nostro corpo e degli organismi viventi.

La letteratura scientifica e i test di laboratorio condotti confermano tale assunto.

Letteratura scientifica

Spray nasale a base di acido ipocloroso come adiuvante nella lotta contro il SARS-Cov-2

European Archives of Oto-Rhino-Laryngology
<https://doi.org/10.1007/s00405-021-06644-5>

A sprayable Acid-Oxidizing solution containing hypochlorous acid (AOS2020) efficiently and safely inactivates SARS-Cov-2: a new potential solution for upper respiratory tract hygiene

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33575830/>

Spray nasale anti Covid a base di acido ipocloroso, a Genova al via i primi test sull'uomo

All'Ospedale San Martino è stato avviato uno studio di valutazione della durata di quattro mesi sull'efficacia e sicurezza di prodotto a base di acido ipocloroso, utilizzato come spray nasale

Al via al San Martino di Genova dalla metà di maggio l'arruolamento nel primo studio sull'uomo per valutare l'efficacia di "AOS2020", un dispositivo medico di classe III contenente Acido Ipocloroso ("HClO"), nel trattamento di pazienti Covid-19 con un quadro clinico lieve.

La sperimentazione verificherà la sicurezza e l'efficacia dello spray, inalato nelle due narici per 3/5 volte al giorno, nel ridurre la carica virale nelle alte vie respiratorie. Questo dato, quando disponibile, rappresenterà il punto di partenza per l'utilizzo del prodotto nella riduzione della contagiosità delle persone e della diffusione del virus. In particolare potrebbe rivelarsi utile in ambienti ad alto rischio come mezzi pubblici o scuole.

Questo studio si basa su altri studi effettuati in merito all'utilizzo dell'acido ipocloroso e alla sua non tossicità, alcuni dei quali sono presentati di seguito.

Effects of a low concentration hypochlorous Acid nasal irrigation solution on bacteria, fungi, and virus

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18677274/>



Risultati dello studio:

le cellule trattate con la soluzione di acido ipocloroso hanno dimostrato la sua **non tossicità sia dopo 30 minuti sia dopo 2 ore;**

è stata dimostrata un' **efficacia battericida e fungicida > 99%;**

è stata dimostrata un' **efficacia virucida sul virus dell'influenza umana A > 3,2 log₁₀**

Conclusione: una soluzione di HOCl a bassa concentrazione può essere considerata efficace come soluzione per irrigazione nasale.

Studi effettuati sulla nebulizzazione

Evaluation of Liquid- and Fog-Based Application of Sterilox Hypochlorous Acid Solution for Surface Inactivation of Human Norovirus

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17483283/>

Conclusioni: **la nebulizzazione del prodotto a base di acido ipocloroso ha dimostrato una riduzione > 3,5 log₁₀ per tutti i virus testati (per alcuni virus fino a 6 log₁₀)**

Hypochlorous Acid: A Review

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7315945/#bib40>

In questa review pubblicata, l'acido ipocloroso è citato come sostanza da utilizzare per la lotta al SARS-Cov-2 **non tossica ed efficace**

Hypochlorous Acid - Analytical Methods and Antimicrobial Activity

<https://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/86198>

L'acido ipocloroso è **prodotto dalle cellule del corpo umano per combattere le infezioni.**

E' efficace contro un ampio spettro di microorganismi.

E' **non-tossico, non-irritante**, non-corrosivo se utilizzato ad una opportuna concentrazione.

Test di non tossicità effettuati su Sanapur

Sanapur ha superato con successo il test di non tossicità sui fibroblasti e sulla Dahnia Magna.



Test di citotossicità

Valutazione della citotossicità di un dispositivo medico mediante un saggio in vitro su colture cellulari di fibroblasti UNI EN ISO 10993-5: 2009 (E)

Il saggio di citotossicità è stato eseguito su colture di fibroblasti L929 trattati con concentrazioni scalari (diluizioni 1:2 a partire da 5.0 mg/ml) del prodotto da testare. Come controllo positivo è stato utilizzato il sodio dodecil solfato (SDS), una sostanza dai noti effetti citotossici, mentre come riferimento negativo è stato impiegato uno standard interno con $IC_{50} > 0.5$ mg/ml (sostanza non citotossica).

I risultati ottenuti non hanno mostrato una diminuzione della vitalità cellulare alle concentrazioni di prodotto testate con una **$IC_{50} > 5.0$ mg/ml**. Un valore di $IC_{50} > 0.5$ mg/ml indica la **totale assenza di effetti citotossici del prodotto testato su colture cellulari di fibroblasti**.

Conclusione: Sanapur PMC non diminuisce la vitalità cellulare alle concentrazioni testate su fibroblasti in vitro con un valore di $IC_{50} > 5.0$ mg/ml. Un valore di $IC_{50} > 0.5$ mg/ml indica assenza di effetto citotossico. Di conseguenza il prodotto risulta **privo di effetti citotossici su fibroblasti in vitro**.

Test di tossicità acuta su *Daphnia Magna*

Eseguito su *Daphnia Magna* per 24 ore (secondo il *Finnish standard SFS 5062*)

Diluizioni:

- Sanapur Foggy - 1:100, 1:500 e 1:1000
- Sanapur - 1:50, 1:200 e 1:500

Product	Dilution	EC ₅₀ ; % (confidence limit)	EC ₅₀ ; % for initial Sanapur
Sanapur Foggy	1:100	25 (22.5-28)	0.25
	1:500	Not toxic	
	1:1000	Not toxic	
Sanapur Eco	1:50	13 (11-16)	0.26-0.28
	1:200	56 (52-59)	
	1:500	Not toxic	

I test hanno dimostrato che **Sanapur non ha un effetto tossico**.



Test di tossicità cronica su *Daphnia Magna*

Protocollo di test

- Il test è stato effettuato su *Daphnia Magna* ed è durato 21 giorni, tempo sufficiente a tale organismo per completare un ciclo completo di vita, dalla nascita alla morte naturale, misurando anche la riproduzione.
- Sono stati utilizzati 5 esemplari di *Daphnia Magna* di origine finlandese (EF) prelevati dal *North Savo Regional Environmental Centre* di *Kuopio*, in Finlandia e sono stati sottoposti ad un test di 21 giorni.

Risultati del test

Si è osservata una mortalità massima del 6,7% (ovvero 1 esemplare su 15 è morto durante un esperimento di 21 giorni).

Gli esemplari si sono riprodotti normalmente.

Nel gruppo di controllo non si è verificata alcuna mortalità.

Si può quindi dedurre che non c'è stata una differenza significativa tra il gruppo di test e il gruppo di controllo (un esemplare morto è considerato fisiologico).

I risultati del test indicano chiaramente che **Sanapur Foggy e Sanapur non hanno effetti tossici.**



Certificazioni di Sanapur

Sanapur ha superato tutti i test di efficacia previsti dalla normativa italiana, è stato approvato come Presidio Medico Chirurgico (PMC n. 20787), ha ottenuto la seguente certificazione per quanto riguarda la non tossicità:

Biodizionario approved e VeganOk



Acido Ipocloroso

Ingrediente cosmetico

Descrizione: Disinfettante

Tossicità: Atossico/ Basso impatto ambientale

Vegan: Sì

[Cerca Acido Ipocloroso sul forum](#)

I prodotti della linea Sanapur sono certificati VeganOk e Biodizionario approved

VeganOk non è solo un marchio di garanzia europeo per i prodotti vegani, ma certifica che il prodotto ed il suo packaging non contengono parti di origine animale e **rispettano basilari principi etici quali la difesa dei diritti animali, umani ed ambientali.**

L'Acido Ipocloroso, principio attivo dei prodotti Sanapur, è stato inoltre inserito nel Biodizionario (Biodizionario.it) come ingrediente disinfettante **atossico ed a basso impatto ambientale.**

Questo ulteriore riconoscimento va a sostenere quanto da noi accertato mediante test di laboratorio commissionati a centri di analisi esterni, che attestano la non tossicità di tutti i prodotti della linea Sanapur.



Formazione sottoprodotti

Clorati e cloriti

A differenza di altri disinfettanti sul mercato che a contatto con sostanze organiche possono formare sottoprodotti tossici e cancerogeni, Sanapur ha superato test di laboratorio che dimostrano che durante la sua azione **non si creano sottoprodotti tossici** come cloriti (ClO_2) e clorati (ClO_3).

Per trovare tali composti chimici, è stata utilizzata la cromatografia a scambio ionico, con lo strumento *CVET-3007*.

I Clorati sono stati cercati nella soluzione iniziale; i cloriti sono stati cercati dopo aver riscaldato Sanapur a 100°C per 5 minuti, per convertire gli eventuali cloriti in clorati.

Il test è stato ripetuto su diverse diluizioni di Sanapur, per convalida.

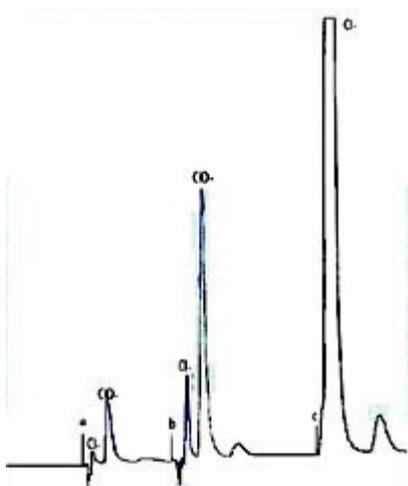
Non sono stati trovati cloriti nè clorati in alcuna diluizione.

Si può affermare quindi che

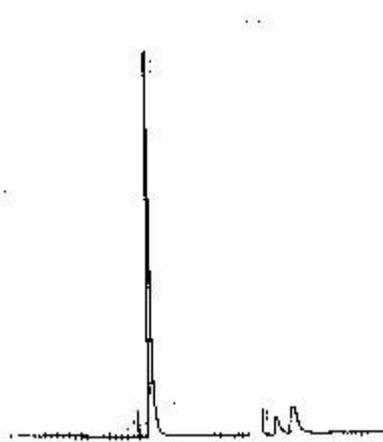
Sanapur non produce sotto-prodotti tossici come clorati e cloriti

I risultati ottenuti sono rappresentati nei grafici seguenti.

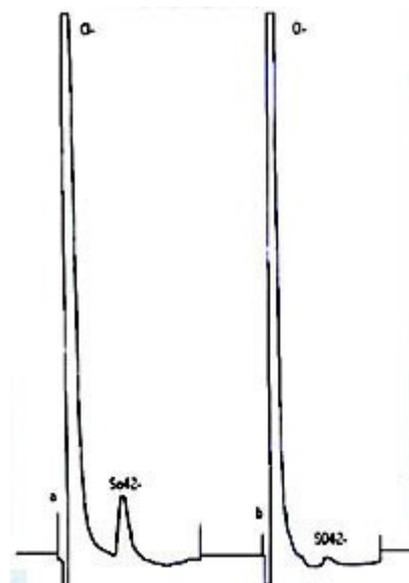




Chromatogram 1. The ion chromatograms: a-standard (ClO₃) with concentration 7.29 mg/l; b - standard (ClO₃) with concentration 29.5 mg/l; c- sample Sanapur Foggy 1:20



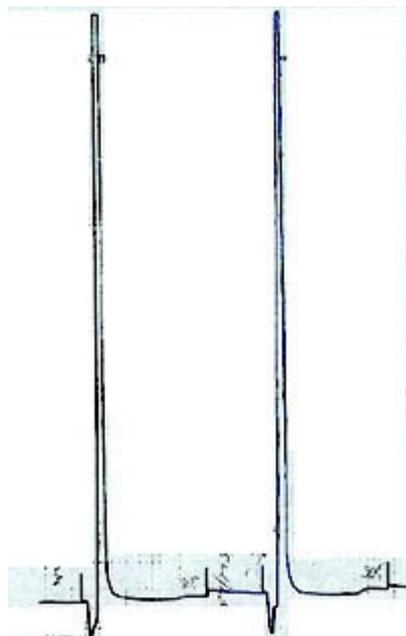
Chromatogram 2. The ion chromatograms: a-sample (Sanapur Foggy 1:200); b - standard (ClO₃) with concentration 29.5 mg/l



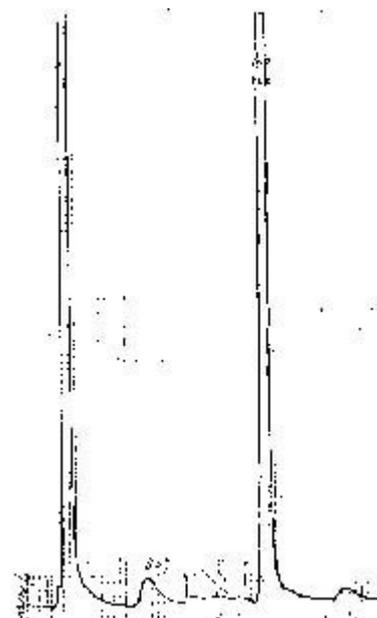
Chromatogram 3. The ion chromatograms: a-sample (Sanapur Foggy 1:100); b - Sanapur Foggy 1:200. SO₄²⁻ ion was added to the sample to ascertain the efficiency of chromatographic conditions.



Chromatogram 4. The ion chromatograms: a-standard (ClO₃) with concentration 29.5 mg/l; b - standard (ClO₃) with concentration 7.29 mg/l



Chromatogram 5. The ion chromatograms: a,b - sample Sanapur 1:200



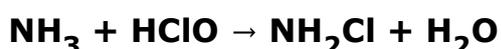
Chromatogram 6. The ion chromatograms: a-sample (Sanapur 1:20); b - Sanapur 1:20. SO₄²⁻ ion was added to the sample to ascertain the efficiency of chromatographic conditions.

Clorammine

Quando Sanapur viene a contatto con l'azoto e i suoi composti (ad esempio in caso di contatto con urina e sudore), non forma sottoprodotti tossici (come ad es. triclorammine).

Ciò è facilmente dimostrabile con i seguenti passaggi:

- il principio attivo di Sanapur è l'acido ipocloroso (HOCl);
- il pH di Sanapur è neutro (pH circa 7);
- l'acido ipocloroso a contatto con l'azoto e i suoi derivati (come l'ammoniaca) **può formare soltanto monoclorammine** (in ambiente con pH>3 come nel nostro caso) secondo la seguente reazione chimica:



dove **NH₂Cl** sono monoclorammine, sostanze utilizzate anche per il trattamento dell'acqua potabile.

(fonte: <https://it.wikipedia.org/wiki/Clorammine>)

Sanapur, a contatto con l'azoto, può formare prevalentemente monoclorammine, utilizzate anche per la disinfezione dell'acqua potabile.

Non può formare triclorammine, sostanze tossiche.

Il seguente grafico mostra la formazione di sottoprodotti dell'acido ipocloroso al variare del pH



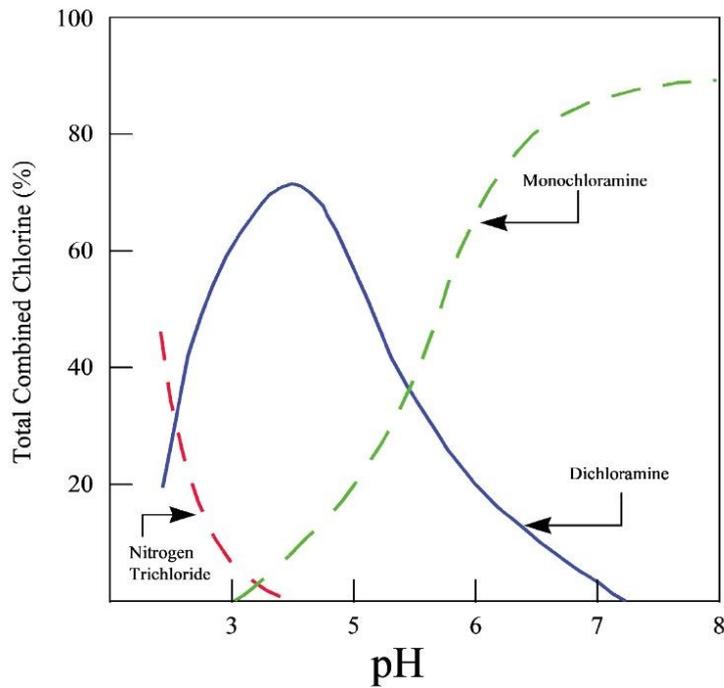


Figure 3: chloramines species as a function of pH. Source: Palin, A. 1950. "A Study of the Chloro Derivatives of Ammonia." Water and Water Engineering. 54:248-258

Ne deduciamo quindi che Sanapur, a contatto con l'azoto, può formare solo monochlorammine, considerate non tossiche, utilizzate anche per la disinfezione dell'acqua potabile.

San Marino, 8/8/2022

S2Life dichiara che il prodotto *Sanapur eco*, Presidio Medico-Chirurgico autorizzato dal Ministero della Salute con n. 20787, è idoneo ad essere utilizzato per disinfettare superfici a contatto con alimenti.

Sanapur eco è stato sottoposto al test di valutazione della citotossicità di un dispositivo medico mediante un saggio in vitro su colture cellulari di fibroblasti UNI EN ISO 10993-5: 2009 (E) I risultati ottenuti hanno dimostrato la totale assenza di effetti citotossici di Sanapur eco su colture cellulari di fibroblasti in vitro.

S2Life dichiara pertanto che *Sanapur eco* può essere utilizzato per disinfettare le superfici a contatto con alimenti.

S2Life ha inoltre superato i test di laboratorio per il non risciacquo delle superfici a contatto con alimenti.

Tali test sono stati effettuati in conformità con il regolamento europeo No. 528/2012 che regola l'immissione in commercio per i prodotti biocidi nella Comunità Europea, e ha rilevato la presenza di clorati entro i limiti previsti dalle normative.

Il principio attivo di Sanapur eco è il cloro attivo rilasciato da acido ipocloroso, noto anche in letteratura scientifica per la sua atossicità. Tale principio attivo, se non presente in forma pura e stabilizzata, può formare nel tempo i clorati, che se sono presenti sopra una certa soglia, sono considerati sostanze tossiche.

I test dei clorati effettuati su Sanapur da laboratori accreditati dal Ministero della Salute, hanno dimostrato che essi sono presenti sotto la soglia di attenzione.

I test citati vengono allegati alla presente dichiarazione.

Cordiali Saluti

Daniele Borsacchi
S2life srl



S2LIFE s.r.l.
Via Nicolino di Galasso, 30
47899 Serravalle Rep. di San Marino
Tel. 00378 85118888 - Cell. 337 1010658
C.O.E. SM27511





ASL Lecce

PugliaSalute

Comitato Etico

Tel.Fax 0832-215733/215646

Mail cometico@ausl.le.it

VERBALE N° 69

Il giorno 17 Dicembre 2021 alle ore 14,30, in modalità "Conference Call", vista la Delibera del Consiglio dei Ministri del 31 gennaio 2020 e successivi DPCM, Circolari della Funzione Pubblica, nonché Direttive Regionali e Aziendali concernenti le "Misure di prevenzione e la gestione delle emergenze COVID 19", il Comitato Etico composto ai sensi dell'art. 2 comma 5 del Decreto Ministeriale 08.02.2013, nominato con Deliberazione Aziendale n° 1348 del 24.10.2016, ratificata con DGR n° 2037 del 13.12.2016, prorogato con DGR n.1970 del 04.11.2019 e DGR n.520 del 08.04.2020, poi con DGR n. 1596 del 17/09/2020, ulteriormente prorogato con DGR N. 459 del 22/03/2021, e successivamente con DGR N. 1568 del 30/09/2021, regolarmente convocato.

COGNOME E NOME	QUALIFICA	FUNZIONE	PRESENTE	ASSENTE
Prof.ssa Diana Conte	Farmacologo	Presidente	x	
Dr. Sergio Pede	Clinico	Vice Presidente	x	
Dr. ssa Cinzia Morciano	Dirigente Medico Dire. Sanitaria	Componente (delegata Dir. Sanitario aziendale)	x	
Dr. Giuseppe Perrone	Rappresentante professioni sanitarie	Componente	x	
Dr. Erlene Galasso	Rappresentante Associazioni di Volontariato	Componente	x	
Dr. Fabrizio Quarta	Statistico	Componente	x	
Dr. Alberto Andrani	M.M.G.	Componente	x	
Dr.ssa Caterina Montinari	Dirett. Area Serv Farmaceutico	Componente	x	
Dr.ssa Stefania Di Noia	Esperto in Bioetica	Componente	x	
Dr.ssa Rosa Mosciogiuri	Farmacista esperto in dispositivi medici	Componente	x	
Dr. Giovanni Pepe	Pediatra	Componente	x	
Dr. Ernesto Durini	Clinico	Componente	x	
Dr. Salvatore Mauro	Genetista	Componente	x	
Dr. Fernando Lupo	Clinico esperto in procedure tecnico-diagnostiche e terapeutiche	Componente	x	
Dr. Francesco M. Gentile	Nutrizionista	Componente	x	
Ing. Massimo Marra	Ingegnere Clinico	Componente	x	
Dr. Gaetano Castrignanò	Clinico –	Componente	x	
Dr. Salvatore Cozza	Medico Legale	Componente	x	
Dr. Antonio Cappelluti Tasti	Responsabile Privacy	Componente	x	
Dr.ssa Anna Maria De Donno	Responsabile Uff. Segr. Amministrativa	Componente	x	

I suddetti componenti hanno dichiarato di astenersi dal pronunciarsi sulle sperimentazioni per le quali possa sussistere un conflitto di interessi di tipo diretto o indiretto.

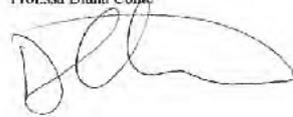
Partecipa alla seduta la dr.ssa Maria Rita De Giorgio, componente della Segreteria Scientifica.

La Presidente, constatato il numero legale, dichiara aperta la seduta.

1.1 Studio clinico SANAPUR (Promotore FH, PI Romano, Pulito, Satriano, Palumbo), sospeso con verbale n. 66 del 08/10/21, con richiesta chiarimenti e modifiche: notifica del Protocollo modificato secondo le indicazioni del CE, acquisita con nota prot. n. 186627 del 22/11/21 ed integrata con nota prot. n. 199155 del 15/12/21.

Il CE approva lo studio.

Il Presidente
Prof.ssa Diana Conic



**PROTOCOLLO
STUDIO INTERVENTISTICO
Titolo dello Studio:**

**NEBULIZZAZIONE DI SANAPUR PER
AEROSOL COME ADIUVANTE NELLA
TERAPIA PER PAZIENTI SARS-COV-2 O CON
ALTRA PATOLOGIA RESPIRATORIA: STUDIO
CLINICO CONTROLLATO, RANDOMIZZATO,
IN DOPPIO CIECO**

**Sanapur for aerosol nebulization as adjuvant
in therapy for Sars-Cov2 or other respiratory
disease patients: randomized, double-blind,
placebo-controlled clinical study**

Codice dello Studio:	SANAPUR STUDY
Numero Eudract:	NA
Versione del Protocollo:	versione 1.0
Data:	13/07/2021
Finanziamenti:	Esterni ai centri partecipanti
Promotori:	Aziende FH S.r.l. , S2Life S.r.l.
Centro Coordinatore:	P.O. "Vito Fazzi" – ASL Lecce
Sperimentatore Principale:	Dr. Anacleto Romano Direttore UO Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera ASL Lecce,
Co-sperimentatori:	Dott.ssa Caterina Urcioli Dirigente Medico UOC Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera ASL Lecce Caterina.urcioli@yahoo.it Dr. Giuseppe Pulito Direttore UOC Anestesia e Rianimazione, Azienda Ospedaliera ASL Lecce Dott.ssa Marianna Madia Dirigente Medico UOC Anestesia e Rianimazione, Azienda Ospedaliera ASL Lecce marianna.madia@libero.it



Dr. Francesco Satriano
Direttore UOC Pneumologia,
Azienda Ospedaliera ASL Lecce,
fsatriano@alice.it

Dr. Antonio Palumbo
Direttore UOC Otorinolaringoiatria,
Azienda Ospedaliera ASL Lecce,

Comitato Scientifico:

Dott. Daniele Borsacchi
Founder, Technology Manager
S2Life S.r.l.
daniele.borsacchi@s2life.com

Dott.ssa Laura Perin
Founder, Research and Development Manager
S2Life S.r.l.
laura.perin@S2life.com

Ing. Matteo Manta
Project Manager
FH S.r.l.
gare@fhmed.it

Dott. Alfredo Rollo
Founder Technology Manager
FH S.r.l.
direzione@fhmed.it

Biologa dott.ssa Tabarrini Linda
Microbiological Research and Development
S2Life S.r.l.
laboratorio@S2life.com

Contatti Promotori:

Dott. Daniele Borsacchi
daniele.borsacchi@s2life.com

Dott. Alfredo Rollo
direzione@fhmed.it

Indice generale

PROTOCOLLO	1
STUDIO INTERVENTISTICO	1
Titolo dello Studio:	1
NEBULIZZAZIONE DI SANAPUR PER AEROSOL COME ADIUVANTE NELLA TERAPIA PER PAZIENTI SARS-COV-2 O CON ALTRA PATOLOGIA RESPIRATORIA: STUDIO CLINICO CONTROLLATO, RANDOMIZZATO, IN DOPPIO CIECO	1
BACKGROUND	5
RAZIONALE DEL PRESENTE STUDIO	5
OBIETTIVI DELLO STUDIO	7
Obiettivo primario	7
Obiettivo secondario	7
ENDPOINT DELLO STUDIO	7
Endpoint primario.....	7
Endpoint secondario.....	7
<i>Endpoint di sicurezza</i>	7
Outcome dello studio.....	7
Outcome visivi	7
Outcome clinici	7
DISEGNO DELLO STUDIO	7
Razionale dello studio.....	7
Razionale della popolazione scelta	8
Razionale della dose e quantità scelta.....	8
Razionale del tempo di somministrazione dell'adiuvante	8
Durata dello studio: indicativamente 3 mesi.....	8
Follow-up.....	8
POPOLAZIONE IN STUDIO	9
Indicazioni.....	9
Criteri di eleggibilità.....	9
Criteri di uscita dallo studio	9
SOMMINISTRAZIONE DI SANAPUR COME ADIUVANTE E GESTIONE DELLA TERAPIA FARMACOLOGICA	10
Somministrazione di Sanapur mediante nebulizzazione	10
Terapia standard.....	10
Terapia Rescue (di salvataggio)	10
INTERVENTI	10
Somministrazione della soluzione Sanapur per aerosol	10



Informazioni da compilare giornalmente sullo stato di salute del paziente.....	10
Valutazione del rapporto beneficio/rischio potenziale per la popolazione.....	10
Controllo di qualità	11
ANALISI STATISTICA.....	11
Raccolta dei dati	11
Valutazioni di sicurezza.....	11
Caratteristiche della casistica, trattamenti e malattie concomitanti.....	11
Elaborazione dei dati	11
BIBLIOGRAFIA.....	13
ALTRI RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI IN MERITO ALL'ACIDO IPOCLOROSO	13
ALTRI RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	13
ALLEGATO1 - Scheda paziente	15
Informazioni da compilare a cura del medico curante	15

BACKGROUND

Dalla fine del 2019, nella provincia cinese di Whuan, si è assistito alla diffusione di un nuovo ceppo di coronavirus indicato come 2019-nCoV o SARS-CoV-2, responsabile di una sindrome denominata malattia da nuovo coronavirus 2019 (COVID-19), il cui quadro clinico comprende uno spettro di sintomi che vanno dalla semplice influenza fino alla polmonite con grave insufficienza respiratoria, spesso fatale.

Il virus, come il predecessore SARS, ha uno specifico tropismo per l'epitelio polmonare.

Già all'inizio del 2020 sono stati registrati i primi casi anche sul nostro territorio nazionale e nel febbraio 2020 è stato segnalato il primo caso di trasmissione sul suolo italiano. La straordinaria diffusione dell'epidemia in tutto il mondo ha portato l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) a dichiarare l'11 Marzo 2020 la pandemia da Coronavirus SARS-CoV-2.

La trasmissione da persona a persona avviene principalmente attraverso le goccioline respiratorie (*droplet*) cariche di agenti patogeni. Le cariche virali del tratto respiratorio superiore sono più elevate nelle prime fasi della malattia e cariche elevate sono associate a tassi di mortalità più elevati. La positività alla ricerca di Sars-Cov-2 mediante RT-PCR su tampone nasale indica che il soggetto è stato infettato.

Le persone contagiate possono essere divise in due categorie: i sintomatici, che manifestano i sintomi dell'infezione in modo più o meno grave, e gli asintomatici, che sono entrati a contatto con l'agente patogeno ma non manifestano sintomi clinici. I pazienti sintomatici si dividono tra quelli con sintomi lievi (simil-influenzali, indolenzimento, dolori muscolari,...) e quelli con sintomatologia grave che può arrivare fino alla sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), cioè un'insufficienza respiratoria dovuta ad un accumulo di liquido nei polmoni e ad una riduzione di ossigeno nel sangue. Questi pazienti necessitano di ossigeno e ventilazione meccanica nei casi più gravi e ciò richiede un ricovero nel reparto di Terapia Intensiva.

Nel pieno della pandemia, questo è stato un problema molto grave poiché i reparti si sono affollati e sono morte molte persone per l'aggravamento di ARDS.

In media, trascorrono circa 5 giorni prima che una persona che ha contratto il virus manifesti i sintomi; il periodo di incubazione può però durare fino a 14 giorni.

L'obiettivo attuale è quello di cercare di evitare l'aggravamento dei sintomi e l'ingresso di pazienti all'interno del reparto di terapia intensiva; questo può avvenire cercando di contenere la carica virale presente nel tratto respiratorio superiore, che può essere una delle cause dell'aggravamento della sintomatologia.

Scopo dello studio è la valutazione di una soluzione per inalazione da utilizzare come adiuvante per abbassare la carica virale nelle alte e basse vie respiratorie, che allo stesso tempo non comporti pericoli per il paziente.

RAZIONALE DEL PRESENTE STUDIO

SANAPUR è un presidio medico chirurgico (PMC) e il suo principio attivo è il cloro attivo rilasciato da acido ipocloroso (HOCl), l'unica sostanza disinfettante senza indicazioni di pericolo approvata da European Chemicals Agency (ECHA) per il 1/7/2022.

È un composto che si ottiene attraverso una elettrolisi controllata, brevettata e standardizzata di acqua e cloruro di sodio; contiene la stessa quantità di sale delle soluzioni fisiologiche (0,9%) quindi è isotonica e il suo utilizzo non comporta squilibri di omeostasi. Gli studi di citotossicità condotti su fibroblasti L929 trattati con concentrazioni scalari di SANAPUR non hanno mostrato una diminuzione della vitalità cellulare, confermando quindi che il prodotto non è citotossico.

Per l'organismo umano, il principio attivo di SANAPUR, l'acido ipocloroso, non è una sostanza estranea: esso viene infatti sintetizzato da un particolare tipo di globuli bianchi, i neutrofili, in presenza di agenti patogeni, sintomo di infezione.

Grazie all'enzima mieloperossidasi, presente in queste cellule, viene catalizzata la reazione per ottenere acido ipocloroso, che viene naturalmente usato come sostanza antimicrobica, grazie al suo meccanismo d'azione.

L'acido ipocloroso ha struttura e dimensione molecolare simile a quella dell'acqua e non presenta carica elettrica. Questo gli permette di penetrare nel doppio strato lipidico della membrana cellulare patogena, carica negativamente, per diffusione passiva. Una volta all'interno, agisce in alcuni processi chiave del metabolismo energetico della cellula.

L'acido ipocloroso libera cloro e ossigeno molecolare che, mediante sostituzione il primo e ossidazione irreversibile il secondo, alterano alcuni enzimi essenziali nella glicolisi e nel ciclo di Krebs.

La conseguenza è la morte del microrganismo per apoptosi.

E' possibile quindi affermare che il principio attivo di SANAPUR, l'acido ipocloroso, manifesta un'azione biocida disinfettante con un meccanismo d'azione aspecifico perché svolge la sua azione microbica attaccando la cellula estranea su più fronti e indipendentemente dal tipo di patogeno incontrato. Abbiamo testato l'efficacia del potere disinfettante di SANAPUR e i dati ottenuti confermano l'attività battericida, virucida, fungicida e levuricida.

SANAPUR non contiene sostanze organiche o proteine che possano agire come sensibilizzanti quindi non c'è il pericolo di sviluppare allergie. E' stato dimostrato che il suo principio attivo, l'acido ipocloroso, non crea sensibilizzazione cutanea o oculare su cavie animali quindi non si manifesta nessun tipo di irritazione ^[1]. Inoltre dopo 5 giorni consecutivi di trattamento nasale, non si sono verificate lesioni macroscopiche in nessuno degli animali testati ^[2].

L'acido ipocloroso è indicato nell'elenco di sostanze approvate per l'uso contro SARS-CoV-2 a partire dal 1 ottobre 2020 da Unites States Environmental Protection Agency (EPA). Per combattere la pandemia da COVID-19 è necessario bloccare o quantomeno limitare la diffusione del virus SARS-CoV-2 tra la popolazione; considerando che il carico virale di Sars-Cov-2 presente nelle vie respiratorie è ai massimi nelle fasi iniziali della malattia e che a carichi virali alti corrisponde un tasso di mortalità più elevato, l'efficacia di una soluzione a base di acido ipocloroso puro e stabile è stata valutata su SARS-Cov-2 umano in vitro: ne è emerso un profilo di tollerabilità a livello del naso e della mucosa orale quindi l'acido ipocloroso può costituire un potenziale trattamento per ridurre la carica virale nelle vie aeree superiori ^[2]. Da un lavoro è emerso che l'acido ipocloroso, anche in forma di aerosol, ha efficacia virucida contro COVID-19 ^[3].

Lo studio più recente in merito all'impiego dell'acido ipocloroso come adiuvante nella lotta al Sars-Cov-2 è quello in corso all'ospedale San Martino di Genova, nel quale un gruppo di pazienti positivi e con sintomi lievi, è stato scelto per la somministrazione di uno spray nasale a base di acido ipocloroso.

Lo studio suggerisce che la soluzione possa avere il potenziale di ridurre la carica virale nelle vie aeree superiori ^[2].

Lo scopo del nostro studio è quello di dimostrare che SANAPUR è un adiuvante nella prevenzione da ARDS a Covid-19 e nella lotta alla diffusione del virus se impiegato nei primi giorni di infezione. La possibilità di disporre di pazienti locali permette in linea di principio la creazione di una protezione specifica acquisita contro l'agente infettivo nei confronti del ceppo virale locale, che potrebbe nel tempo mutare rispetto al ceppo wild type. La possibilità di somministrare SANAPUR come adiuvante mediante procedura di inalazione per spray o aerosol con rapidità ed efficacia mettendola immediatamente a disposizione del paziente che ne abbia necessità rappresenta in questo momento un aiuto alla terapia farmacologica.

L'utilizzo precoce della soluzione per inalazione, utilizzata in pazienti in respiro spontaneo e/o non sottoposti a ventilazione meccanica, potrebbe avere un ruolo importante nel ridurre il rischio di ARDS e di trasferimento in Terapia Intensiva. L'ipotesi dello studio è che somministrando SANAPUR precocemente si possa ridurre la necessità di ventilazione meccanica e si possa migliorare la sopravvivenza e la durata della degenza di questi pazienti. Inoltre, ci proponiamo di esplorare il tempo alla negativizzazione del tampone nasofaringeo nei pazienti trattati con la soluzione.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Obiettivo primario

Obiettivo primario dello studio è valutare l'efficacia della formulazione Sanapur per aerosol. Lo studio si estende a tutti i pazienti con sintomatologia respiratoria. Valgono per entrambe le categorie di studio gli stessi criteri di eleggibilità.

Obiettivo secondario

Obiettivo secondario è la valutazione della sicurezza, confrontata con il gruppo di controllo, della formulazione Sanapur per aerosol. Ogni eventuale evento avverso deve essere registrato, dall'inizio del trattamento fino a 5 giorni dopo la fine del trattamento.

ENDPOINT DELLO STUDIO

Endpoint primario

La percentuale di pazienti dimessi dal Presidio Ospedaliero senza riscontrare disturbi gravi.

Endpoint secondario

La percentuale di pazienti che abbandonano lo studio per effetti collaterali dovuti al trattamento.

Endpoint di sicurezza

Eventi avversi, esami di laboratorio, emogasanalisi e valutazione fisica.

Outcome dello studio

Outcome visivi

Irritazione di occhi e viso, dispnea, shock, peggioramento delle condizioni fisiche generali. Le informazioni si ritrovano nelle schede di valutazione.

Outcome clinici

Esami di laboratorio, emogasanalisi, necessità di ventilazione meccanica invasiva con pressione positiva continua (CPAP) o non invasiva (NIV). I dati rimangono tracciati all'interno della cartella clinica del pazienti mediante referti medici.

DISEGNO DELLO STUDIO

Razionale dello studio

Lo studio clinico sarà controllato mediante un gruppo di controllo, randomizzato e in doppio cieco per valutare gli effetti della soluzione Sanapur per inalazione.

Sulla base dei dati di afflusso in ospedale forniti dai reparti di malattie infettive, rianimazione e pneumologia del Presidio Ospedaliero "V. Fazzi" di Lecce, si ritiene che nel periodo di studio potranno essere reclutati un minimo di 100 pazienti da inserire nello studio clinico.

Per questi motivi, lo studio sarà condotto su un totale di 100 pazienti randomizzati in possesso dei criteri di eleggibilità, che saranno sottoposti alle cure mediche consuete per le patologie riscontrate.

Di questi, 50 faranno parte del gruppo di controllo, che saranno trattati nebulizzando soluzione fisiologica (placebo), mentre gli altri 50 saranno il gruppo di studio trattati con Sanapur per nebulizzazione.

Per avere dei dati statisticamente significativi, si ritiene che almeno 50 pazienti debbano concludere lo studio. Pertanto, nel caso in cui alcuni pazienti si ritirino volontariamente, sarebbe opportuno inserire nello studio nuovi arruolati in modo da garantire che un minimo di 50 pazienti per gruppo.

Si identificano con A e B i due gruppi nei quali si dividono i pazienti (uno è il gruppo di studio e uno è il gruppo di controllo). I pazienti non hanno facoltà di scegliere in quale gruppo rientrare.

Razionale della popolazione scelta

I pazienti verranno reclutati presso il P.O. "Vito Fazzi" - ASL Lecce dal quale si identificheranno i candidati da selezionare per verificarne l'idoneità alla somministrazione. Tutte le somministrazioni di Sanapur verranno effettuate adottando il protocollo operativo per la selezione dei pazienti con diagnosi virologicamente documentata di COVID-19 o di altra patologia respiratoria opportunamente documentata. Sanapur sarà somministrato come adiuvante ai pazienti reclutati all'interno dello studio in possesso dei corretti criteri di eleggibilità, e verrà utilizzato in affiancamento alla terapia in corso.

Razionale della dose e quantità scelta

La soluzione di Sanapur viene fornita in una fiala monodose da 3 ml alla concentrazione di 50 PPM (0,005%). Questa quantità viene adottata normalmente da qualsiasi dispositivo per l'aerosol, come per esempio la soluzione fisiologica.

La concentrazione del principio attivo in Sanapur aerosol è stata valutata dopo avere preso in considerazione uno studio in vivo svolto su pulcini. In tale studio, sono stati valutati sia l'utilizzo mediante nebulizzazione di acido ipocloroso alla concentrazione di 50 ppm che di 100 ppm per 13 minuti: entrambe le soluzioni non hanno mostrato effetti clinici sugli animali ma si è mantenuta l'attività disinfettante virucida^[4].

Secondo un altro lavoro, una soluzione di acido ipocloroso alla concentrazione di 250 ppm (250 mg/L), nebulizzata su una superficie pulita per 5 minuti con un nebulizzatore in grado di effettuare un consumo di prodotto di 120 ml/m², riesce ad abbattere la carica di patogeni presente sulle superfici e nell'aria^[5].

Sono stati anche analizzati gli effetti sia sistemici che gastrointestinali dell'ingestione di acqua e acido ipocloroso nei topi ed è emerso che dopo otto settimane non sono stati registrati cambiamenti significativi nel peso corporeo, nelle ispezioni visive della cavità orale, nei test istopatologici e nella misurazione della rugosità superficiale dello smalto, oltre che nella sua morfologia^[6].

Per questi motivi è stata valutata la minima concentrazione possibile, cioè 50 ppm (0,005%), per avere sicurezza nell'utilizzo sui pazienti pur mantenendo le proprietà del principio attivo di Sanapur.

Razionale del tempo di somministrazione dell'adiuvante

La somministrazione della soluzione di Sanapur per aerosol sarà eseguita mediante l'utilizzo di un apparecchio per aerosol due volte al giorno (mattina e sera) per 15 giorni.

Considerando che Sars-cov-2 ha un periodo di latenza di circa 3 giorni e che nei 4 giorni successivi l'infettività è massima, oltre che il suo periodo di incubazione sono 5 giorni, riteniamo che trattare i pazienti per 15 giorni sia un tempo sufficiente per valutare l'efficacia di Sanapur come adiuvante nella terapia. Sono quindi compresi sia i tempi del virus che i tempi individuali di reazione all'infezione.

Durata dello studio: indicativamente 3 mesi

Periodo di arruolamento indicativo: luglio 2021 – Settembre 2021

Dal momento che ci siamo posti l'obiettivo di reclutare 100 pazienti per questo studio, i tempi indicati potrebbero subire delle variazioni in base al raggiungimento di tale numero.

Follow-up

Il follow-up è fissato 5 giorni dopo la fine del ciclo di trattamenti dell'ultimo paziente.

POPOLAZIONE IN STUDIO

Indicazioni

Lo studio verrà condotto in ambito ospedaliero su pazienti selezionati in base ai criteri di eleggibilità di seguito descritti e che abbiano firmato il consenso informato (il consenso può essere orale se un consenso scritto non può essere espresso).

Criteri di eleggibilità

Criteri di inclusione:

- età > 18 anni, ambo sessi;
- pazienti con positività alla ricerca mediante RT-PCR di SARS-CoV-2 su tampone nasale, orofaringeo o sierologico oppure con una delle seguenti condizioni/sintomi:
 - ❖ pazienti con diagnosi di polmonite da ≤ 10 giorni, con Imaging radiologico (TC, RX, Ecografia) suggestivo;
 - ❖ valori di emogasanalisi al di fuori dei valori normali, ad esempio $P/F \leq 300$, $pH < 7,35$, $paCO_2 > 45$... (verrà fornita tabella con valori completi) che suggeriscono un quadro lieve di ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome);
 - ❖ insufficienza respiratoria non pienamente spiegabile da insufficienza cardiaca o sovraccarico idrico (previa esclusione di cause idrostatiche dell'edema in assenza di fattori di rischio mediante valutazione oggettiva, per esempio ecografica);
 - ❖ sintomi come febbre, tosse, mialgia, dispnea;
 - ❖ diagnosi di rinite, tracheite, bronchite, polmonite.

Criteri di esclusione:

- pazienti sottoposti a terapia con farmaci immunosoppressori;
- valutazione medica in base alla quale viene valutato che il trattamento non è nel miglior interesse del paziente;
- esistenza di condizioni che non consentono di eseguire il protocollo in sicurezza;
- allergia o ipersensibilità nota all'acido ipocloroso;
- donne in gravidanza e allattamento;
- paziente sottoposto a ventilazione meccanica invasiva con pressione positiva continua (CPAP) o non invasiva (NIV) al momento dell'arruolamento;
- pazienti che non hanno firmato il consenso informato.

Criteri di uscita dallo studio

L'uscita di un paziente dal gruppo di studio si può verificare in qualsiasi momento in caso di ritiro del consenso, di evento avverso correlato (outcome) e di variazione delle condizioni che precludono il proseguimento della partecipazione allo studio. Tutti gli attori coinvolti nello studio (medici, comitato etico,...) saranno avvisati tempestivamente. I pazienti saranno visitati il prima possibile e continueranno ad essere seguiti secondo la normale pratica clinica.

Perdita del follow-up

Il paziente verrà seguito per 5 giorni dall'ultima nebulizzazione di Sanapur al fine di valutare l'eventuale insorgenza di eventi avversi. In generale, la conclusione dello studio coinciderà con il termine del follow-up dell'ultimo paziente arruolato. Se non sarà possibile constatare telefonicamente o personalmente lo stato di salute del paziente trattato sarà considerato perso il follow-up.

SOMMINISTRAZIONE DI SANAPUR COME ADIUVANTE E GESTIONE DELLA TERAPIA FARMACOLOGICA

Somministrazione di Sanapur mediante nebulizzazione

La somministrazione di Sanapur 50 PPM verrà attraverso un apparecchio per aerosol due volte al giorno per 15 giorni. Sono fornite delle fiale monouso da 3 ml della soluzione in studio.

Terapia standard

Tutti i pazienti continueranno a ricevere la terapia già in atto, inclusa quella per la infezione da Sars-CoV2. La terapia standard sarà effettuata in conformità alle indicazioni delle schede AIFA per quanto riguarda sia la scelta dei farmaci che i dosaggi e le durate di trattamento.

Terapia Rescue (di salvataggio)

I pazienti saranno monitorati in accordo alla normale pratica clinica. In caso di peggioramento delle condizioni cliniche, il medico può decidere nel miglior interesse del paziente se proseguire o meno con il trattamento, come adiuvante alla terapia più opportuna. Qualora il paziente necessiti di ventilazione meccanica invasiva con pressione positiva continua (CPAP) o non invasiva (NIV) lo studio sarà necessariamente interrotto.

INTERVENTI

Somministrazione della soluzione Sanapur per aerosol

La somministrazione mediante aerosol dovrà essere effettuata in conformità alla normativa vigente.

La somministrazione dovrà seguire i seguenti passaggi secondo le normative vigenti:

1) Accettazione del paziente in conformità alle normative vigenti

La registrazione dell'anagrafica del donatore viene effettuata dal personale attraverso i sistemi gestionali informatici con procedura conforme alle normative vigenti, previa acquisizione del consenso al trattamento dei dati personali da parte del paziente. Per ciascun paziente convalescente registrato il sistema gestionale informatico genera un codice anagrafico identificativo univocamente associato al paziente.

2) Selezione del paziente

La selezione dei pazienti è affidata ai medici partecipanti.

3) Il paziente, opportunamente informato sulla procedura di trattamento, rilascia il consenso informato.

4) Procedura di somministrazione

Informazioni da compilare giornalmente sullo stato di salute del paziente

L'azienda fornisce opportune schede organizzate per giorni, in modo da rendere più agevole e possibile la compilazione da parte del personale sanitario e dei pazienti.

I controlli richiesti sono dettagliati in Allegato 1.

Saranno fornite delle schede in formato pdf con campi scrivibili.

Valutazione del rapporto beneficio/rischio potenziale per la popolazione

Sebbene di solito la soluzione sia ben tollerata e non si siano mai registrati casi di ipersensibilità individuale verso il principio attivo, anche in concentrazione di 10 volte superiore, sono possibili effetti indesiderati, di gravità lieve, moderata o severa, imputabili alla inalazione della soluzione, a causa della variabilità individuale. In questo caso avverrà il ritiro dei soggetti e saranno apportate modifiche all'intervento.

È previsto il ritiro dei soggetti nel caso di ritiro del consenso informato.

È prevista sospensione dell'intervento qualora insorgano, nel corso della inalazione, eventi avversi correlabili alla inalazione stessa.

Controllo di qualità

Il controllo di qualità sarà effettuato sia presso il Presidio Ospedaliero sia presso la ditta S2life S.r.l. Il primo constaterà l'integrità dei dati ottenuti e la tutela dei soggetti trattati, il secondo la corretta produzione della soluzione Sanapur. Sono molto importanti le schede di valutazione per pazienti e medici e la tracciabilità dei lotti di prodotto utilizzati.

ANALISI STATISTICA

Raccolta dei dati

I dati raccolti verranno raggruppati e riassunti rispetto alle variabili demografiche, alle caratteristiche basali ed alle valutazioni di efficacia e sicurezza. Le analisi esplorative saranno effettuate utilizzando statistiche descrittive. I dati saranno presentati sia per la popolazione intent-to-treat (ossia tutti i pazienti che hanno assunto almeno una dose del prodotto di studio) che per la popolazione per-protocol (ossia tutti i pazienti che hanno completato lo studio senza violazioni maggiori del protocollo).

Valutazioni di sicurezza

Le valutazioni di sicurezza saranno basate principalmente sulla frequenza degli eventi avversi, includendo tutti gli eventi avversi seri. Gli eventi avversi verranno riassunti presentando per ogni gruppo di trattamento il numero e la percentuale di pazienti che hanno avuto un qualsiasi evento avverso, un evento avverso in uno specifico apparato dell'organismo ed uno specifico evento avverso. Ogni altra informazione raccolta verrà codificata come appropriato.

Verranno inoltre prodotte liste analitiche che riportano informazioni dettagliate relativamente:

- pazienti che hanno interrotto lo studio e relativi motivi;
- pazienti che hanno interrotto lo studio per eventi avversi;
- pazienti che hanno avuto eventi avversi seri;
- pazienti con valori di esami di laboratorio fuori dai range predefiniti.

Caratteristiche della casistica, trattamenti e malattie concomitanti

I dati relativi alle caratteristiche demografiche e basali ed alle osservazioni e misure di efficacia e sicurezza verranno opportunamente riassunti. Le caratteristiche di somministrazione del farmaco in studio e degli altri trattamenti concomitanti verranno riassunte, analogamente alle principali malattie concomitanti registrate all'ammissione in studio. Verranno inoltre listati i pazienti che hanno interrotto lo studio e descritti analiticamente i relativi motivi.

La popolazione su cui verrà effettuata l'analisi di sicurezza è la "Popolazione di sicurezza" costituita da tutti i pazienti randomizzati che abbiano assunto almeno una dose del farmaco in studio.

Gli eventi avversi verranno riassunti presentando il numero e la percentuale di pazienti con ogni tipologia di evento, classificata per body-system e per preferred-term. Le altre informazioni raccolte (es. gravità, relazione causale) verranno listate così come i pazienti con eventi avversi seri. Verranno inoltre listati i pazienti che hanno avuto eventi avversi seri e che hanno interrotto lo studio per eventi avversi.

I valori degli esami verranno riassunti in opportune tabelle che riporteranno la frequenza dei valori al di fuori di un intervallo predeterminato. I valori che rappresentano anomalie rilevanti verranno listati.

Gli altri dati di sicurezza (es. elettrocardiogrammi, segni vitali ed esami specifici) verranno valutati in modo appropriato.

Elaborazione dei dati

I dati raccolti vengono inseriti in un database nel quale vengono elaborati a livello statistico.

I confronti di base delle caratteristiche cliniche e demografiche in base all'assegnazione del gruppo di studio, vengono eseguiti utilizzando il Mann-Whitney U test per i dati non parametrici (i.e. dati che non rispondono ad un criterio di distribuzione predefinito, o che rispondono ad un criterio di distribuzione che non è noto a priori), sia per le variabili di tipo discreto, sia per le variabili di tipo continuo. Il medesimo criterio verrà utilizzato sia per il gruppo di controllo sia per il gruppo di studio.

Ogni indice quantitativo viene calcolato come valore mediano con range interquartile (IQR).

Tutte le statistiche sono condotte su una doppia coda, e un p-value inferiore o uguale a 0,05 viene considerato accettabile.

Le analisi di sicurezza basano su effettiva esposizione al trattamento dei pazienti.

L'analisi statistica viene eseguita con il software Graph Pad PRISM6.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Wang L., Bassiri M. et al, Hypochlorous Acid as a Potential Wound Care Agent Part I. Stabilized Hypochlorous Acid: A Component of the Inorganic Armamentarium of Innate Immunity, 2007, Journal of burns and wounds
- [2] Giarratana N., Rajan B. et al, A sprayable Acid-Oxidizing solution containing hypochlorous acid (AOS2020) efficiently and safely inactivates SARS-Cov-2: a new potential solution for upper respiratory tract hygiene, 2020, European Archives of Oto-Rhino-Laryngology
- [3] Nguyen K., Bui D. et al, The Potential Use of Hypochlorous Acid and a Smart Prefabricated Sanitising Chamber to Reduce Occupation-Related COVID-19 Exposure, 2021, Risk Management and Healthcare Policy
- [4] Hakim H., Thammakarn C. et al, Aerosol Disinfection Capacity of Slightly Acidic Hypochlorous Acid Water Towards Newcastle Disease Virus in the Air: An In Vivo Experiment, 2015, Avian Diseases
- [5] Hao X., Li B. et al, Application of slightly acidic electrolyzed water for inactivating microbes in a layer breeding house, 2013, Poultry Science
- [6] Morita C., Nishida T. et al, Biological toxicity of acid electrolyzed functional water: Effect of oral administration on mouse digestive tract and changes in body weight, 2011, Archives of Oral Biology

ALTRI RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI IN MERITO ALL'ACIDO IPOCLOROSO

Hj K, Jg L, Jw K, Hj C et al (2008) Effects of a low concentration hypochlorous acid nasal irrigation solution on bacteria, fungi and virus. Laryngoscope 118(10):1862–1867. <https://doi.org/10.1097/Mlg.0b013e31817f4d34>. Pmid:18677 274

Hakim H, Thammakarn C, Suguro A, Ishida Y et al (2015) Aerosol disinfection capacity of slightly acidic hypochlorous acid water towards newcastle disease virus in the air: an in vivo experiment. Avian Dis 59(4):486–491. <https://doi.org/10.1637/11107-042115-Reg.1>. PMID

Block MS, Rowan BG (2020) Hypochlorous acid: a review. J Oral MaxillofacSurg 78(9):1461–1466. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2020.06.029>

ALTRI RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Taylor P (2020) Non-vaccine nasal spray could protect against covid-19. Pharmaphorum. <https://pharmaphorum.com/news/non-vaccine-nasal-spray-could-protect-against-covid-19/> Feb 2021

Pianta L, Vinciguerra A, Bertazzoni G et al (2020) Acetic acid disinfection as a potential adjunctive therapy for non-severe COVID-19 Eur Arch Otorhinolaryngol 277(10):2921–2924

Wang L, Bassiri M, Najafi R, Najafi K, Yang J, Khosrovi B, Hwong W, Barati E, Belisle B, Celeri C, Robson MC (2007) Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part I. Stabilized hypochlorous acid: a component of the inorganic armamentarium of innate immunity. J Burns Wounds 11(6):e5

Yu X, Sun S, Shi Y, Wang H, Zhao R, Sheng J (2020) SARSCoV-2 viral load in sputum correlates with risk of COVID-19 progression. Crit Care 24(1):170. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-02893-8>. PMID:32326 952;PMCID :PMC71 79376

Memish ZA, Al-Tawfiq JA, Makhdoom HQ, Assiri A et al (2014)



ASLLECCE
SERVIZIO SANITARIO DELLA PUGLIA

Respiratory tract samples, viral load, and genome fraction yield in patients with Middle East respiratory syndrome. *J Infect Dis* 210(10):1590–1594. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu292> (Epub 2014 May 15. PMID: 24837403; PMCID: PMC7107391)

Ramalingam S, Graham C, Dove J, Morrice L et al (2019) A pilot, open labelled, randomised controlled trial of hypertonic saline nasal irrigation and gargling for the common cold. *Sci Rep* 9:1015. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37703-3>

Rabago D, Zgierska A (2009) Saline nasal irrigation for upper respiratory conditions. *Am FamPhys* 80(10):1117–1119 (PMID:19904896; PMCID: PMC2778074)

Ludwig M, Enzenhofer E, Schneider S, Rauch M et al (2013) Efficacy of a carrageenan nasal spray in patients with common cold: a randomized controlled trial. *Respir Res* 14(1):124. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-14-24>. PMID:24219 370; PMCID:PMC38 40586

ALLEGATO1 - Scheda paziente

Informazioni da compilare a cura del medico curante

Da compilare all'inserimento del paziente nel gruppo di studio

Cognome e Nome

Numero progressivo assegnato

(ai fini dell'identificazione del pz nello studio)

Età

Assegnato al gruppo

A

B

Peso

Fumatore

Patologie rilevanti (barrare)

diabete

ipertensione

iperlipidemia

sindrome delle apnee ostruttive nel sonno

tosse

asma

allergie

altro (specificare)...

Assunzione di farmaci (elencare)

Sintomi (elencare)

Esami e valutazioni da effettuare tre volte per ogni paziente

	Giorno 0 (prima di iniziare il trattamento)		Giorno 7 (metà trattamento)		Giorno 15 (a fine trattamento)	
	Valori riscontrati	Numero cicli PCR	Valori riscontrati	Numero cicli PCR	Valori riscontrati	Numero cicli PCR
Tampone covid-19						
Tampone oro- faringeo						

Esami e valutazioni da effettuare giornalmente per ogni paziente

Registrare eventi avversi ogni qual volta ne capiti uno (dal momento dell'arruolamento del pz fino a 5 giorni dopo la fine dell'arruolamento)

Valutazione del paziente

(secondo il metodo ALS-Advanced Life Support dell'Italian Resuscitation Council-IRC)

Barrare tutte le voci del caso

pO ₂ (mmHg) (pressione parziale di O ₂)		> 60 ottimale: 80-100 (i valori fisiologici diminuiscono con l'età; sottrarre 1 mm/Hg da 80 mm/Hg per ogni anno di età sopra i 60 anni e fino ai 90 (Fischbach e Dunning, 2006))
P/F = pO ₂ /FiO ₂		> 300 se 200 ≤ P/F ≤ 300: insufficienza moderata; se P/F < 200: insufficienza grave.
pH		7,35 - 7,45 se pH < 7,35: acido; se pH > 7,45: alcalino.
pCO ₂ (mmHg) (pressione parziale di CO ₂)		35 - 45
HCO ₃ ⁻ (mEq/l)		24-26
thb (g/dL) (concentrazione totale emoglobina)		11-17
Na ⁺ (mEq/L)		135-145
Cl ⁻ (mEq/L)		95-105
K ⁺ (mEq/L)		3,50-4,50
Ca ₂ ⁺ (mEq/L)		4,49-5,29
Eccessi o deficit delle basi BE ⁺ /BE ⁻ (mEq/L)		+/-2
Lattato (mEq/L)		0,3-1,3
Glucosio (mg/dL)		60-110

Allegare eventuali altri esami se eseguiti (a discrezione del medico, che ne valuta il rapporto rischi/benefici) come ad esempio ulteriori tamponi, TC, altri esami diagnostici.

Per la finalità del presente studio, l'esito di ogni TC e di altri eventuali esami viene classificato in base a quello del valore precedentemente registrato: peggiorato, stazionario, migliorato.

Valutazione soggettiva da parte del paziente

Qualità di vita (QoL)

In genere i questionari di QoL misurano l'impatto della salute di un paziente sulla sua capacità di eseguire le

attività della vita quotidiana. Sono strumenti utili per valutare gli approcci del trattamento e nel valutare l'outcome riabilitativo o terapeutico. Possono affiancare le misurazioni oggettive.

Per dare informazioni affidabili il questionario scelto deve essere valido, ripetibile e sensibile al cambiamento. Il questionario proposto in questa sede prende spunto dal questionario SGRQ (Saint George's Respiratory Questionnaire), un questionario specifico per disturbi respiratori, utilizzato per la valutazione della qualità della vita di pazienti affetti da BPCO (broncopneumopatia cronica ostruttiva). Il questionario è composto da quesiti, riguardanti i sintomi respiratori, il grado di disabilità o limitazione delle attività quotidiane, legate ai disturbi respiratori, ed è formulato in termini da chiedere al paziente le variazioni avvenute nella sintomatologia rispetto al giorno precedente, secondo diversi aspetti. Il questionario viene somministrato inizialmente il giorno 2 e tutti i giorni seguenti fino alla fine del trattamento.

Valutazione sintomi rispetto al giorno precedente (da compilare giornalmente, ad eccezione del giorno 1)
Chiedere al paziente come si sente rispetto al giorno prima (valutazione soggettiva)

Come si sente rispetto al giorno prima?	Non applicabile (il sintomo non si è mai presentato)	Peggiorato 😞	Stazionario 😐	Migliorato 😊
Frequenza respiratoria: c'è una progressiva normalizzazione del ritmo respiratorio rispetto a ieri?				
Profondità del respiro: riesce a respirare più profondamente di ieri?				
Rispetto a ieri, la sua condizione di "affanno" si presenta di meno (a parità di sforzo fisico)?				
Rispetto a ieri, si sente più in forze/ha più energie?				
Ha avuto attacchi respiratori ? (variazione rispetto a ieri) Se sì, l'entità di tali attacchi è stata più lieve?				
Ha avuto tosse ? (variazione rispetto a ieri)				
Ha irritazione agli occhi? (variazione rispetto a				

ieri)				
Ha irritazione al viso? (variazione rispetto a ieri)				
Ha notato arrossamenti / infiammazioni nelle muose del naso e della bocca? (variazione rispetto a ieri)				