

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Scienze

Dipartimento di Fisica

Corso di Laurea in Ottica e Optometria

**IGIENE DELLE MANI NELLA PRATICA
CONTATTOLOGICA IN TEMPO DI COVID-19:
VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA ANTIMICROBICA
DI FORMULAZIONI IGIENIZZANTI IDROALCOLICHE.**

Relatore: Prof.ssa Amoruso Irene

Correlatore: Prof. Rossetti Anto

Laureanda: Anòè Camilla
(matricola n. 1238681)

Anno Accademico 2022 – 2023

Abstract

Background: L'obiettivo di questo studio è quello di indagare l'efficacia antimicrobica di formulazioni idroalcoliche, al fine di determinare quale igienizzante sia più opportuno utilizzare prima dell'applicazione delle lenti a contatto, considerandone sia l'efficacia antimicrobica, che la persistenza di residui dello stesso sulle mani del soggetto.

Metodi: Lo studio, strutturato come indagine pre/post, ha visto il reclutamento di 30 soggetti portatori o non di lenti a contatto. Gli stessi sono stati sottoposti a 3 diverse procedure di igienizzazione mani: 1. Lavaggio con acqua e sapone; 2. Igienizzazione con gel idroalcolico; 3. Igienizzazione con spray idroalcolico, con valutazione della carica microbica presente sulla superficie del polpastrello di pollice e indice della mano dominante, sia prima che dopo ciascuna procedura di igienizzazione. Per determinare la carica microbica sono state utilizzate piastre contenenti terreno nutriente Plate Count Agar (PCA), ciascuna divisa a metà lungo il diametro per dividere il pre e il post lavaggio mani e ulteriormente suddivisa per differenziare l'impronta di pollice e indice. Le piastre sono state incubate per 24 ore a 37°C e, successivamente, è stata effettuata la conta delle Unità Formanti Colonia (UFC) per ciascuna impronta. È stata condotta un'analisi statistica descrittiva e da ultimo la determinazione dell'abbattimento microbico percentuale per ciascuna procedura di igienizzazione delle mani.

Risultati: La procedura con acqua e sapone ha mostrato un abbattimento microbico medio pari al 15,2%. Il frizionamento con il gel idroalcolico ha ottenuto un abbattimento medio dell'80,6%, mentre lo spray idroalcolico del 41,5%. Al fine di comprendere meglio i risultati relativi al lavaggio acqua e sapone, è stata condotta anche un'indagine specifica sull'acqua utilizzata durante la sperimentazione. Tale indagine ha confermato che l'acqua impiegata

non presentava una significativa contaminazione in grado di influenzare i risultati delle analisi.

Conclusioni: I dati ottenuti suggeriscono che, alle condizioni di prova, il metodo comunemente utilizzato dalla maggior parte dei portatori di lenti a contatto per l'igienizzazione delle mani, ovvero il semplice lavaggio con acqua e sapone, presenta una minore efficacia rispetto al gel idroalcolico e allo spray idroalcolico. Pur tuttavia sarebbe auspicabile condurre ulteriori prove, così da poter escludere definitivamente possibili bias che hanno influenzato negativamente l'efficacia del lavaggio con acqua e sapone. Di interesse anche condurre una valutazione dei residui chimici lasciati da gel e spray, così da caratterizzare a tutto tondo l'idoneità dei prodotti per i portatori di LAC.

Indice

1.	Introduzione	3
1.1.	Il microbiota umano	4
1.2.	Il microbiota oculare	5
1.2.1.	Alterazioni del microbioma oculare e lenti a contatto	7
1.2.2.	Caratterizzazione ecologica del microbiota cutaneo	13
1.3.	L'igiene delle mani in tempi pandemici.....	15
2.	Scopo della tesi	17
3.	Materiali e metodi	18
3.1.	Reclutamento.....	18
3.2.	Indagine microbiologica.....	18
3.3.	Protocollo delle procedure di igienizzazione delle mani	20
3.4.	Strumentazione e materiali specifici	21
3.5.	Analisi dell'acqua di rete.....	23
3.6.	Valutazione dell'abbattimento microbico percentuale.....	25
4.	Risultati	27
4.1.	Livelli massimi e minimi di carica microbica	28
4.2.	Metodica 1: Lavaggio acqua e sapone	28
4.3.	Metodica 2: gel idroalcolico.....	29
4.4.	Metodica 3: spray idroalcolico	30
4.5.	Carica microbica media.....	31
4.6.	Abbattimento microbico percentuale	33
4.7.	Analisi microbiologica dell'acqua di rete	33
5.	Discussione	36
5.1.	Covid-19: considerazioni generali	36
5.2.	Relazione tra lenti a contatto e Covid-19	39
5.3.	L'importanza dell'igienizzazione delle mani.....	41
5.4.	Discussione dati sperimentali.....	44
6.	Conclusioni	49
7.	Bibliografia	51
8.	Allegati.....	55

1. Introduzione

Le comunità microbiche sono state tradizionalmente definite come l'insieme di microrganismi che vivono insieme in un ambiente contiguo.

Tuttavia, nel 1988 è stato introdotto il termine “microbiota” che deriva dal greco antico (*Whipps et al., 1988*). La parola è composta da “micro” (gr. μικρος), che significa piccolo, e “biota” (gr. βιος), che indica gli organismi viventi di un ecosistema. Hanno combinato le due parole per descrivere una “comunità microbica caratteristica” all'interno di un habitat ben definito con proprietà fisico-chimiche distinte.

Questa definizione rappresenta un importante avanzamento nella comprensione della comunità microbiche, in quanto sottolinea la loro funzione e interazione con l'ambiente, creando specifiche nicchie ecologiche.

Nel corso degli anni sono state proposte diverse definizioni di microbiota, ma quella più citata (*Lederger, 2001*), descrive i microrganismi all'interno di un contesto ecologico come una comunità di microrganismi commensali, simbiotici e patogeni all'interno di uno spazio corporeo o altro ambiente.

Prendere in considerazione i principali sviluppi storici è fondamentale per comprendere come la ricerca sul microbioma si sia evoluta come disciplina essenziale nella vita moderna.

Il campo della ricerca sul microbiota ha avuto origine nel campo della microbiologia e ha iniziato a svilupparsi nel corso del XX secolo. Il progresso della ricerca è stato spesso guidato dalla scoperta e dall'applicazione di nuove tecnologie e attrezzature.

È interessante notare che diverse invenzioni tecnologiche hanno notevolmente potenziato la ricerca microbiologica, portando a cambiamenti di paradigma nella nostra comprensione della salute e della malattia. Poiché le malattie infettive hanno afflitto le popolazioni umane

per gran parte della storia, la microbiologia medica è stata uno dei primi ambiti di ricerca e ha suscitato un forte interesse pubblico.

1.1. Il microbiota umano

Il microbiota umano si riferisce alla vasta diversità di microrganismi e ai loro genomi che vivono in associazione con il nostro corpo, sia all'interno che alla superficie. Questa comunità microbica è composta da batteri, eucarioti, virus e archaea.

Diversi siti anatomici ospitano comunità microbiche distinte che svolgono ruoli cruciali nella modulazione della fisiologia locale dell'ospite, ognuno dei quali ha una composizione unica e specifiche funzioni. Ogni persona ha un microbiota unico, che può influenzare la salute e il benessere generale.

Microbioma è invece il termine che si riferisce all'insieme del patrimonio genetico composto da batteri, protozoi, funghi, virus ed eucarioti che si trovano all'interno del nostro corpo.

Il progetto *Human Microbiome* (<https://hmpdacc.org>) ha analizzato la più grande coorte di microbioti e relativi microbiomi umani, concentrandosi su cinque aree principali del nostro corpo: la cavità orale, le vie respiratorie, la pelle, il tratto gastrointestinale e la vagina.

Ogni regione della mucosa rappresenta una nicchia microbica distinta all'interno del corpo umano, dove i microbiomi sono determinati da fattori specifici del sito ospite, come il pH e i livelli di ossigeno. Il microbioma viene ulteriormente perfezionato attraverso le interazioni con il suo ambiente, compresa la dieta e l'esposizione agli antibiotici.

Il tratto gastrointestinale, ad esempio, ha il genoma batterico maggiore di 100 rispetto al nostro genoma umano, il che indica l'importanza dei microbi per il nostro organismo. Allo stesso tempo, altre superfici, come la superficie oculare, sono paucibatterici, con circa 0,06 batteri per cellula umana.

È interessante notare che, sebbene il genoma umano contenga circa 20.000 geni, il microbioma ne contiene circa 8 milioni.

I microbi presenti nel nostro microbiota possono essere classificati in tre categorie: mutualisti, commensali e patogeni. I microbi mutualisti sono benefici per la nostra salute. I microbi commensali aiutano a ricavare i nutrienti dal cibo, a mantenere l'equilibrio del sistema immunitario e a proteggerci contro gli agenti patogeni, mentre i microbi patogeni possono causare malattie nell'organismo ospitante.

Lo spostamento o il cambiamento dell'omeostasi del microbiota viene definito con il termine disbiosi, il quale può essere causato da diversi fattori, come la dieta, gli antibiotici e le infezioni. La disbiosi può portare a un cambiamento nella composizione del microbiota, aumentando la crescita e l'invasione di specie patogene.

Le alterazioni dell'abbondanza di batteri intestinali sono implicate in diverse malattie sistematiche, tra cui disturbi gastrointestinali come l'obesità, la diarrea, il cancro al colon-retto e la colite ulcerosa, ma anche a disturbi non gastrointestinali. Ad esempio, la disbiosi intestinale è stata associata a malattie oculari come la secchezza oculare, l'uveite e la retinopatia diabetica.

1.2. Il microbiota oculare

La superficie oculare è la parte più esterna dell'occhio, costantemente esposta all'ambiente esterno e la sua flora, le lacrime e l'immunità locale sono essenziali per mantenere l'omeostasi della superficie oculare. Inoltre, il microbiota oculare aiuta a proteggere l'occhio dalla colonizzazione dei patogeni, che spesso porta a infezioni opportunistiche.

In condizioni di microbiota anomalo, si possono riscontrare diverse condizioni oculari, tra cui la secchezza oculare, l'allergia, la blefarite e la sindrome di Stevens-Johnson.

I microbi commensali che si trovano in piccole quantità sulle palpebre sono principalmente organismi Gram-positivi, membri dei generi *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Streptococcus* e *Propionibacterium*. Questi microrganismi provengono dalla pelle e colonizzano la superficie oculare fin dalla nascita. Questo ecosistema microbico rimane in equilibrio per tutta la vita, ma può essere interrotto da fattori come l'uso di antibiotici, conservanti, interventi chirurgici, l'uso prolungato delle lenti a contatto o la loro usura e, da ultimo, le infezioni.

Tra i patogeni più comuni troviamo lo *Staphylococcus aureus*, lo *Streptococcus pneumoniae*, l'*Haemophilus influenzae* e altri batteri patogeni, i quali possono portare a infezioni oculari.

In oftalmologia, esiste un rilevante interesse per la relazione tra il microbiota intestinale e la salute oculare. Numerosi studi hanno dimostrato l'esistenza di un asse intestino-occhio, dove i batteri intestinali possono influenzare l'immunità in siti distanti, come l'occhio.

In particolare, alcune condizioni oculari come la sindrome di Sjögren, il glaucoma, la retinopatia diabetica, la cheratite infettiva e la degenerazione maculare, sono associate ad anomalie del microbiota intestinale.

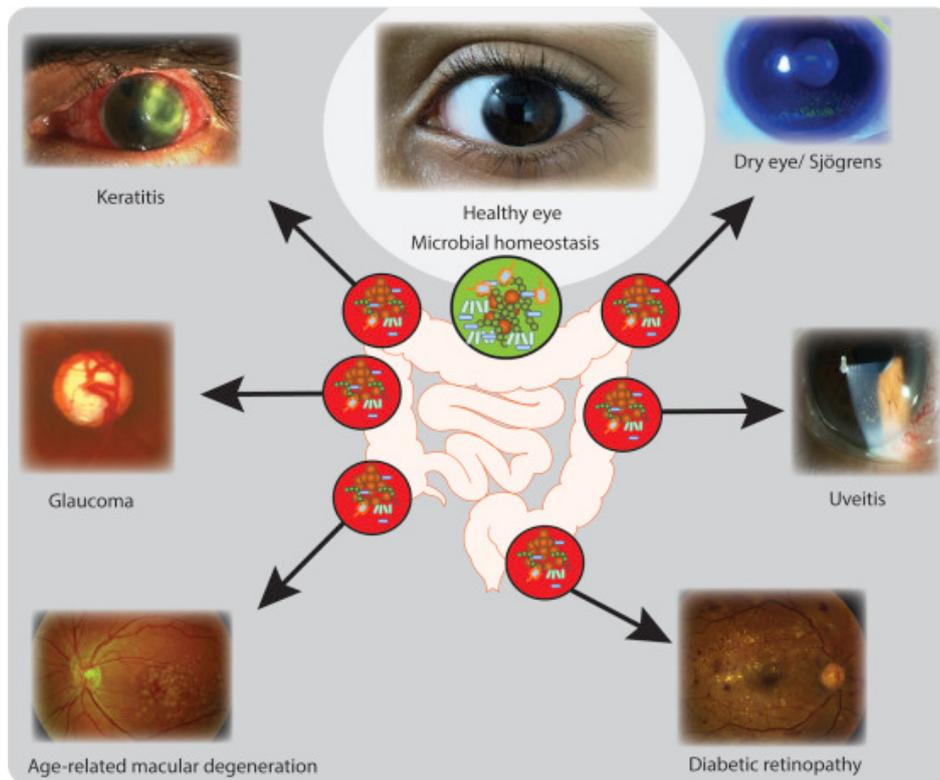


Fig. 1 - Relazione tra microbiota intestinale e salute oculare.

1.2.1. Alterazioni del microbiota oculare e lenti a contatto

Durante uno studio sul microbiota della superficie oculare nei portatori di lenti a contatto, è stato riscontrato che essi presentano un microbiota più simile a quello cutaneo rispetto a chi non ne fa uso. In particolare, il microbiota della superficie oculare è caratterizzato da una maggiore concentrazione di *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Methylobacterium* e *Lactobacillus*, mentre ha una minore abbondanza relativa di *Haemophilus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Corynebacterium* rispetto ai non portatori di lenti a contatto.

Inoltre, le lenti a contatto possono modificare il proteoma della congiuntiva, con alterazioni significative nelle proteine antimicrobiche, nel metabolismo lipidico e nelle citochine

infiammatorie, che a loro volta possono influenzare la composizione lipidica e mucinica del film lacrimale. La soluzione per la conservazione delle lenti a contatto può avere un impatto sul microbiota della superficie oculare poiché contiene conservanti a base di perossido, che possono ridurre la concentrazione di alcuni ceppi batterici come ad esempio *Corynebacterium*, *Haemophilus* e *Streptococcus*, che in alcuni casi possono essere considerati patogeni.

Il conservante benzalconio cloruro, utilizzato in alcune preparazioni oftalmiche come farmaci topici, ha dimostrato di avere un effetto significativo sul microbiota della superficie oculare. Tale conservante è comunemente utilizzato per prevenire la crescita di batteri patogeni delle preparazioni oftalmiche agendo come detergente, distruggendo le pareti cellulari e rilasciando il contenuto citoplasmatico.

Il benzalconio cloruro, a concentrazioni basse può inibire i microrganismi Gram-positivi, incluso lo *Staphylococcus*, con una maggiore attività contro i Gram-negativi. Il tempo di dimezzamento del conservante è di 20 ore nei tessuti epiteliali corneali e di 11 ore negli strati congiuntivali.

Tuttavia, alcuni studi colturali hanno dimostrato che l'uso di colliri topici per il glaucoma contenenti benzalconio cloruro può aumentare la concentrazione di *Staphylococcus epidermidis* resistente agli antibiotici rispetto alla formulazione priva di conservanti. Questo può essere dovuto al fatto che il benzalconio cloruro, pur avendo effetto detergente, non riesce a eliminare completamente i microrganismi Gram-positivi, che possono quindi sviluppare resistenza agli antibiotici.

L'utilizzo di farmaci topici conservanti può causare una perturbazione del microbiota oculare, aumentando la suscettibilità alle infezioni nell'uso delle lenti a contatto.

Le lenti a contatto possono anche agire come veicoli per microrganismi, favorendo l'adesione di batteri sulla superficie oculare. I microrganismi commensali che si trovano al margine delle palpebre e sulla congiuntiva, insieme ai potenziali patogeni transitori presenti sulla superficie oculare, possono infettare le lenti a contatto. In presenza di una compromissione della resistenza tissutale, questi microrganismi resistenti, ma anche i patogeni transitori, possono invadere e colonizzare la cornea e la congiuntiva, causando infiammazioni o infezioni.

La manipolazione delle lenti è infatti una delle principali cause di contaminazione. I microrganismi trasferiti dalle mani solitamente non sopravvivono e non colonizzano permanentemente la superficie della lente quando viene applicata su un occhio normale e sano. Ad ogni modo, anche quando vengono rimosse in modo asettico dall'occhio, più della metà delle lenti a contatto ospitano microrganismi, quasi esclusivamente batteri. Gli stafilococchi vengono comunemente isolati da lenti applicate. Più in generale, circa il 10% delle lenti ospita specie Gram-negative e altamente patogene, anche in soggetti asintomatici.

Uno studio condotto nel 1992 da Mowry e colleghi (*Mowry et al., 1992*) ha analizzato i livelli di contaminazione delle lenti a contatto dopo il loro utilizzo da parte dei pazienti. Ai partecipanti è stato consegnato un set di lenti da maneggiare e indossare per 5 ore, mentre il secondo set è stato solo maneggiato, ma non indossato. Al termine delle 5 ore il livello di contaminazione delle lenti indossate è risultato da 22 a 65 volte inferiore rispetto a quello delle lenti a contatto che erano state solamente manipolate.

Ciò supporta l'idea che, in condizioni fisiologiche, l'occhio sano abbia un potente sistema antimicrobico in grado di eliminare autonomamente gran parte di microrganismi introdotti durante la manipolazione e l'applicazione della lente a contatto. Tuttavia, è importante

notare che la manipolazione delle lenti a contatto può essere fonte aggiuntiva di contaminazione.



Fig. 2 - Lente usa e getta giornaliera rimossa e maneggiata previo lavaggio delle mani. La lente è stata posta in piastra petri contenente terreno agarizzato di tipo Plate Count Agar, con tecnica di inclusione a sandwich: la lente viene appoggiata su un primo strato di agar solido e successivamente coperta da uno strato di terreno liquido che, raffreddandosi, consentirà di ottenere l'inclusione della stessa all'interno del medium di coltura.

1.3 Il microbiota cutaneo

La nostra pelle è il luogo in cui si sviluppa una complessa comunità microbica, composta da milioni di batteri, funghi e virus, che costituiscono il microbiota cutaneo. Questi microrganismi svolgono un ruolo fondamentale nella protezione della pelle contro gli agenti patogeni invasori, nell'educazione del nostro sistema immunitario e nella scomposizione dei prodotti naturali.

La pelle, essendo l'organo più esteso del corpo umano, ospita una comunità di microrganismi benefici che svolgono un ruolo cruciale nella sua salute e funzione.

Essa agisce anche come barriera fisica protettiva, prevenendo l'invasione di agenti patogeni nell'organismo. Tuttavia, in determinate circostanze in cui questa protezione viene compromessa o quando l'equilibrio tra i microrganismi commensali e i patogeni viene disturbato, possono insorgere malattie della pelle o persino malattie sistemiche.

Nello specifico, le mani ospitano una diversità batterica maggiore rispetto ad altre parti del corpo e la loro composizione può variare nel tempo. Sono un potenziale serbatoio di microrganismi che possono essere trasferiti al tocco del viso, inclusi gli occhi, aumentando il rischio di infezioni.

La pelle fornisce un ambiente ricco di nicchie che ospitano popolazioni di microbi condizionate da diverse variabili ecologiche, come ad esempio l'umidità, la temperatura, il pH e la presenza di peptidi e lipidi antimicrobici.

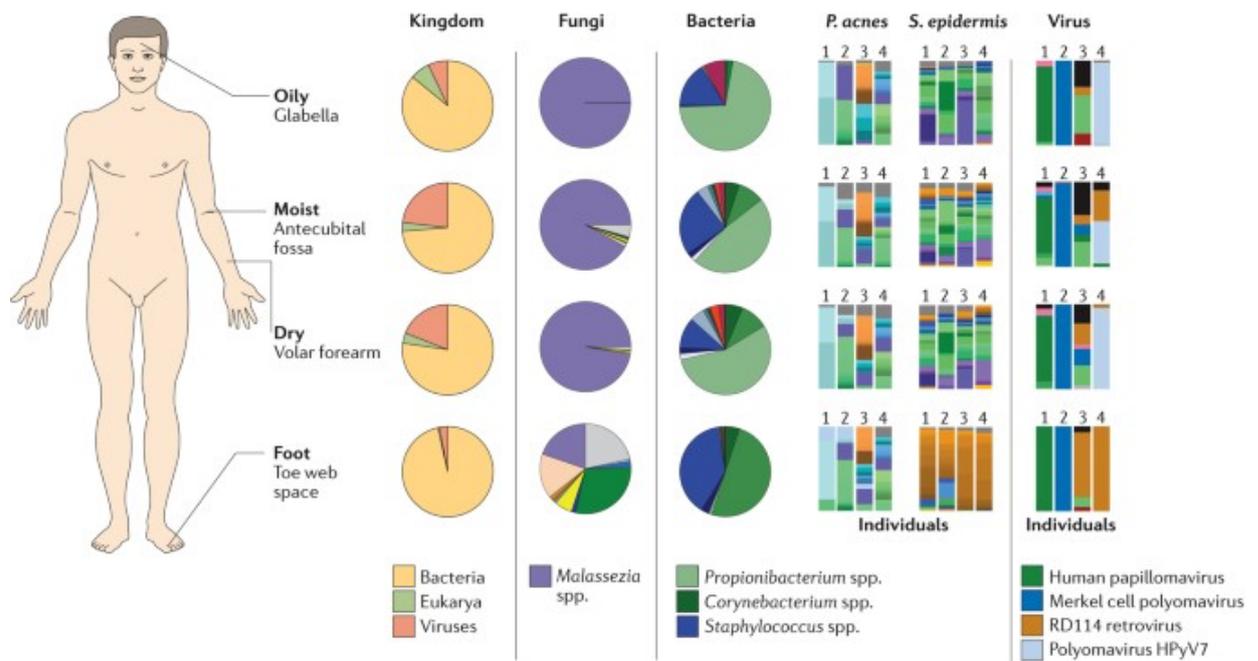
Le strutture della pelle, come i follicoli piliferi e le ghiandole sebacee, offrono ambienti distinti che ospitano un microbiota unico. L'analisi della diversità microbiologica delle diverse nicchie cutanee utilizzando il sequenziamento del gene rRNA 16S ha rilevato

l'ampio impatto che queste hanno sulla composizione microbica, in termini di abbondanza relativa delle diverse specie.

È noto che il microbiota batterico cutaneo comprenda almeno 19 phyla principali, quali *Actinobacteria* (51,8%), *Fimicutes* (24,2%), *Proteobacteria* (16,5%) e *Bacteroidetes* (6,3%). Come accennato nel paragrafo precedente, i generi più comuni identificati includono *Corynebacterium*, *Propionibacterium* e *Staphylococcus*. L'abbondanza di ciascun gruppo è fortemente influenzata dalle caratteristiche specifiche della nicchia cutanea.

Ad esempio, le zone del viso con ghiandole sebacee sono predominanti in specie come *Propionibacterium* e *Staphylococcus*. Nelle zone umide come le ascelle, predomina il genere *Corynebacterium*, sebbene siano presenti anche alcune specie di *Staphylococcus*. Al contrario, nelle aree asciutte della pelle, si trovano popolazioni miste di specie batteriche appartenenti a gruppi β -*Proteobacteria* e *Flavobacteriales* come parte del microbiota residente.

I risultati ottenuti attraverso i metodi di coltivazione tradizionali sono in linea con quelli ottenuti tramite le nuove tecnologie di sequenziamento del DNA batterico. Ad esempio, gli studi condotti con le colture batteriche tradizionali riportano una prevalenza di colonizzazione di *Staphylococcus aureus* tra individui diversi di circa il 4%, mentre il suo stretto parente filogenetico *Staphylococcus epidermidis* è molto più comune.



Nature Reviews | Microbiology

Fig. 3 - Composizione del microbiota cutaneo. Adattata da: Allyson L. Byrd, Yasmine Belkaid, Julia A. Segre, *The human skin microbiome. Nature Review Microbiology. 15 January 2018; 16: 143-155.*

1.2.2. Caratterizzazione ecologica del microbiota cutaneo

La flora cutanea può essere suddivisa in tre principali tipi: residente, transitoria e patogena. Queste distinzioni vennero descritte per la prima volta già nel 1938 e continuano a essere riconosciute nelle ricerche scientifiche.

La flora residente rappresenta la popolazione di microrganismi che colonizza in modo permanente la pelle umana. Questi microrganismi sono prevalentemente presenti sulla superficie della pelle, sotto le cellule dello strato corneo più esterno. Se la barriera offerta dal derma risulta intatta, questi batteri residenti non sono da considerarsi pericolosi, ma potrebbero causare infezioni, qualora entrassero in contatto con distretti più suscettibili alle

infezioni del corpo, come gli occhi, o se penetrassero in ferite sulla pelle, avendo così potenziale accesso a distretti corporei di norma sterili.

I batteri cutanei residenti sopravvivono più a lungo sulla pelle intatta rispetto alle specie transitorie, in particolare i batteri Gram-negativi.

La flora residente svolge un ruolo importante come antagonista microbico e compete per i nutrienti presenti nell'ecosistema cutaneo, creando un ambiente sfavorevole per l'insediamento di microrganismi dannosi. Ad ogni modo le interazioni tra i batteri e i funghi presenti sulla pelle sono ancora poco comprese. Sebbene molte di queste siano state dimostrate in studi sperimentali, il loro contributo alla stabilità dell'ecosistema cutaneo rimane ancora poco chiaro.

La specie dominante della flora cutanea residente è *Staphylococcus epidermidis*, che si trova praticamente ovunque sulla pelle umana.

Oltre a *S. epidermidis*, ci sono altri batteri che, tipicamente, fanno parte della flora cutanea residente. Questi includono *Staphylococcus hominis*, e altri stafilococchi coagulasi-negativi.

Inoltre, sono presenti propionibatteri, corinebatteri, dermabatteri e micrococchi.

Per quanto riguarda i funghi, il genere più rappresentativo della flora cutanea residente è il *Malassezia*.

È importante notare che i virus di solito non risiedono sulla pelle come parte della flora batterica. Tuttavia, alcuni virus possono proliferare all'interno dell'epidermide vivente, inducendo cambiamenti patologici, come ad esempio acne, dermatite atopica e psoriasi.

La flora cutanea transitoria comprende batteri, funghi e virus che sono invece presenti sulla pelle solo occasionalmente. Questi microrganismi di solito non si moltiplicano, ma in

condizioni favorevoli potrebbero occasionalmente proliferare, rappresentando pertanto un potenziale rischio di natura infettiva.

È importante notare che la trasmissibilità dei microrganismi transitori dipende da diversi fattori. Tra il 4% e il 16% della superficie di una mano può essere esposta a un singolo contatto diretto (es. una stretta di mano). La capacità di trasmissione dei batteri transitori dipende dalla specie batterica coinvolta, dal numero di batteri presenti sulle mani, dalla loro capacità di sopravvivere sulla pelle e dal livello di idratazione della pelle stessa.

La flora residente transitoria comprende dunque i microrganismi che persistono e si moltiplicano per un periodo limitato sulla pelle umana. A differenza della flora cutanea residente, questa non è presente in modo costante a lungo termine, ma può colonizzare temporaneamente la pelle. La sua permanenza non è definita e può variare da individuo a individuo. Dal momento che i colonizzatori transitori possono anche essere rappresentati da microrganismi patogeni, si può considerare la flora patogena come una possibile casistica di quella transitoria.

I patogeni di interesse nel contesto dell'igiene delle mani sono quelli che si trasmettono principalmente attraverso la modalità diretta di contagio, da persona a persona.

1.3. L'igiene delle mani in tempi pandemici

La consapevolezza dell'impatto del tocco del viso sulla trasmissione di microrganismi è diventata particolarmente rilevante durante la pandemia di Covid-19, in cui l'igiene delle mani e il distanziamento sociale sono state raccomandazioni fondamentali per ridurre la diffusione del virus.

La pandemia di Covid-19 ha sollevato l'interesse per il tocco spontaneo del viso come possibile via di infezione microbica, in particolare il tocco degli occhi è considerato importante poiché la superficie oculare potrebbe fungere da portale per infezioni da Coronavirus.

L'auto-contagio attraverso il tocco degli occhi è ben documentata in condizioni oftalmiche come la congiuntivite infettiva, aumentando il rischio di malattie della superficie oculare oltre all'infezione primaria da agenti patogeni come ad esempio il papillomavirus umano.

Secondo il Centro per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie (CDC) di Atlanta, l'igiene delle mani rappresenta il “mezzo più importante per prevenire la diffusione delle infezioni”, ed è quindi fondamentale nella lotta contro la diffusione di agenti patogeni.

Le mani, infatti, possono fungere da serbatoio per germi dove, una piccola percentuale di questi è costituita da microrganismi non patogeni che normalmente risiedono sulla pelle senza causare danni.

Tuttavia, possono essere presenti anche virus, batteri provenienti dall'ambiente circostante o da superfici con cui entriamo in contatto.

Quando i germi trovano un ambiente favorevole, si insediano sulle mani e, se le condizioni lo permettono, iniziano a proliferare rapidamente. Possono sopravvivere sulle superfici per diverse ore, come giocattoli, maniglie, tavoli, telecomandi, tastiere dei computer, asciugamani e altri oggetti. Da queste superfici, i germi possono trasferirsi al naso, alla bocca o agli occhi semplicemente toccandoli con le mani.

La mancanza o un lavaggio inadeguato delle mani rappresenta un fattore di rischio nello sviluppo di cheratite microbica correlata all'uso di lenti a contatto e di eventi infiammatori corneali.

2. Scopo della tesi

L'obiettivo del presente elaborato di tesi è quello di sottolineare l'importanza dell'igiene delle mani prima dell'applicazione delle lenti a contatto, soprattutto durante il periodo di pandemia, in cui sono stati introdotti e/o promossi nuovi prodotti igienizzanti come il gel idroalcolico e lo spray idroalcolico.

Sebbene queste nuove alternative offrano un metodo più rapido rispetto al tradizionale lavaggio delle mani con acqua e sapone, è importante tenere presente che contengono componenti chimici i cui residui, se entrano in contatto con gli occhi contestualmente all'applicazione delle LAC, potrebbero causare bruciore e irritazione.

Nello specifico, si sono condotte delle prove per valutare l'efficacia antimicrobica del classico lavaggio acqua e sapone, gel idroalcolico e spray idroalcolico, strutturando uno studio pre/post per la valutazione dell'abbattimento microbico percentuale di ciascuna delle tre metodiche di igienizzazione delle mani sopracitate.

3. Materiali e metodi

3.1. Reclutamento

Per il presente studio sono stati reclutati 30 partecipanti tra gli studenti del corso di laurea di Ottica e Optometria dell'Università degli Studi di Padova, portatori e non di lenti a contatto. Criterio preferenziale per la scelta del soggetto sono state le unghie corte, mentre la presenza di dermatomicosi è stata considerata quale criterio di esclusione.

3.2. Indagine microbiologica

Il disegno dello studio è quello del setting sperimentale pre/post. Per ciascun soggetto arruolato si è andati a verificare, mediante le metodiche colturali in seguito descritte, l'entità della contaminazione microbiologica delle mani, prima e dopo l'esecuzione di tre diverse tipologie di igienizzazione. Più nel dettaglio, si è andati ad indagare la contaminazione dei polpastrelli di pollice e indice della mano dominante, in quanto dita maggiormente coinvolte nell'applicazione delle lenti a contatto.

Ciascun soggetto ha partecipato a tre diverse sessioni sperimentali, ciascuna incentrata su di una procedura di igienizzazione mani differente:

1. lavaggio con acqua e sapone;
2. gel idroalcolico;
3. spray idroalcolico.

Il dettaglio di ciascuna procedura di igienizzazione verrà descritto poco oltre. Ad ogni partecipante, prima del test, sono state impartite indicazioni sulla corretta metodologia di lavaggio-igienizzazione (es. infografiche OMS), per standardizzare il più possibile le condizioni di prova e minimizzare la variabilità soggetto-dipendente.

Ad ogni soggetto è stato assegnato un ID numerico univoco, utilizzato nella creazione del database e per l'identificazione delle piastre petri utilizzate nelle 3 diverse prove.

Prima di iniziare ogni procedura è stata consegnata ad ogni soggetto una piastra contrassegnata dall'ID, un agar solido nutriente non selettivo. Il fondo della piastra è stato marcato con un pennarello indelebile a metà, lungo il suo diametro, per dividere la zona "pre" e "post" delle mani. Successivamente ciascuna sezione è stata divisa ulteriormente in due aree per distinguere agevolmente l'impronta del pollice da quella dell'indice.

Prima dell'igienizzazione delle mani, ciascun partecipante ha dunque impresso le impronte di pollice e indice nell'area "pre" della piastra di agar, esercitando una pressione omogenea della durata di 10 secondi. Successivamente, è stata eseguita la stessa procedura dopo aver effettuato la procedura di igienizzazione delle mani, oggetto di sperimentazione della specifica sessione sperimentale.

Le piastre sono state poi poste in un incubatore termostato con temperatura di 37°C per 24 ore. Tali condizioni di crescita consentono la crescita della maggior parte delle specie batteriche che comunemente colonizzano le mani.

Il giorno seguente è stata eseguita la conta delle colonie cresciute su ciascuna piastra, contando manualmente le Unità Formanti Colonia (UFC) sviluppatesi sul terreno di coltura, aiutandosi con un pennarello nero indelebile per marcare le colonie contate.

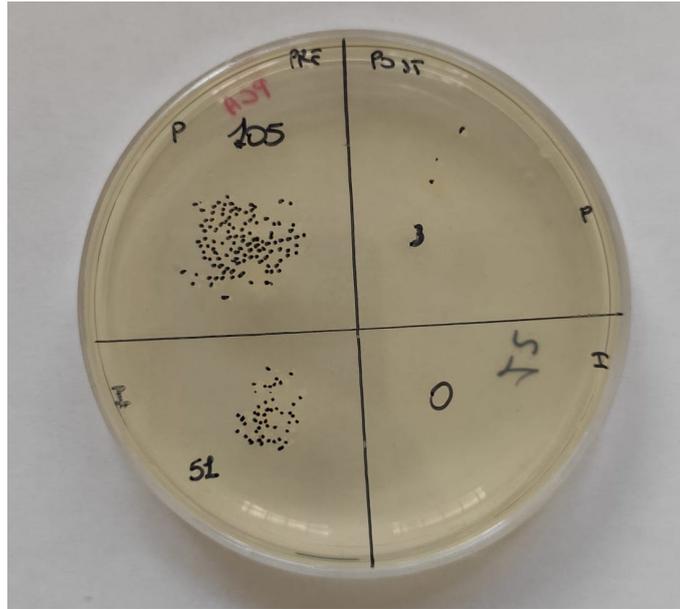


Fig. 4 - Conteggio Unità Formanti Colonia (UCF) batteriche su piastra.

3.3. Protocollo delle procedure di igienizzazione delle mani

Per standardizzare al meglio la sperimentazione, i partecipanti sono stati invitati a seguire un protocollo di riferimento, consegnato e discusso prima di effettuare ogni sessione sperimentale.

Per questo studio ci si è avvalsi delle linee guida ufficiali della Organizzazione mondiale della Sanità (OMS)

1. Protocollo lavaggio mani con acqua e sapone:

1. Bagnarsi le mani con acqua tiepida.
2. Applicare abbastanza sapone da coprire tutte le superfici delle mani.
3. Strofinare le mani palmo contro palmo.
4. Palmo destro sopra il dorso sinistro con dita intrecciate e viceversa.
5. Palmo a palmo con dita intrecciate.
6. Dorso delle dita per opporsi palmi con dita intrecciate.
7. Sfregamento rotatorio del pollice sinistro stretta nel palmo destro e viceversa.

8. Sfregamento rotazionale, all'indietro e in avanti con le dita giunte della destra mano nel palmo sinistro e viceversa.
9. Sciacquare le mani con acqua.
10. Asciugare bene, prima sgocciolando e poi all'aria.
11. Non toccare nulla nel tempo che intercorre tra il lavaggio e la prova post.

2. Protocollo igienizzazione mani con gel idroalcolico:

1. Applicare una noce di prodotto nel palmo di una mano e distribuire su tutta la superficie.
2. Strofinare le mani palmo contro palmo.
3. Palmo destro sopra il dorso sinistro con dita intrecciate e viceversa.
4. Palmo a palmo con dita intrecciate.
5. Dorso delle dita per opporsi palmi con dita intrecciate.
6. Sfregamento rotatorio del pollice sinistro stretta nel palmo destro e viceversa.
7. Sfregamento rotazionale, all'indietro e in avanti con le dita giunte della destra mano nel palmo sinistro e viceversa.
8. Asciugare all'aria.

Per la procedura di igienizzazione mani con lo spray idroalcolico è stato riadattato il medesimo di igienizzazione con gel idroalcolico.

3.4. Strumentazione e materiali specifici

Per le tre diverse procedure di igienizzazione delle mani sono stati utilizzati:

1. sapone per le mani neutro con pH 4.5;
2. gel idroalcolico con 77% di componente alcolica;
3. spray idroalcolico con 70% di alcol isopropilico, 4% di perossido di idrogeno e 100% di coformulanti q.b.

Le indagini microbiologiche sono state condotte nel Laboratorio di Igiene e Sanità Pubblica (LIMA), Dip. Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e Sanità Pubblica (DVTV) dell'Università degli Studi di Padova.

A tal fine sono stati utilizzati il seguente materiale e strumentazione:

4. Piastre petri monouso sterili (diam 90mm) contenenti Plate Count Agar (PCA), il quale è un terreno nutriente, non selettivo, di norma impegnato per la determinazione della carica microbiologica totale di numerose matrici negli alimenti, mangimi, acqua ed altri materiali. Questo terreno, conosciuto anche come Tryptone Glucose Yeast Agar o Casein-Peptone Dextrose Agar, soddisfa i requisiti forniti da American Public Health Association ed ISO 4833; è un terreno ambrato, leggermente opalescente con pH finale a 25°C di 7.0 ± 0.2 .

Il digerito enzimatico di caseina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita degli organismi e l'estratto di lievito è la fonte di vitamine, soprattutto del gruppo B.



Fig. 5 – Piastra di PCA (plate count agar).

5. L'incubatore da laboratorio è una camera riscaldata, isolata, utilizzata per coltivare, colture microbiologiche, la quale mantiene una temperatura stabile di 37°C, temperatura di crescita ideale per le specie batteriche target.



Fig. 6 - Incubatore da laboratorio a 37°C.

3.5. Analisi dell'acqua di rete

La determinazione dei parametri microbiologici è stata effettuata prelevando 1 L di acqua di rete dal medesimo lavandino utilizzato dagli studenti per il lavaggio mani. L'acqua è stata prelevata con bottiglia sterile di vetro pyrex, contenente 1 mL di sodio tiosolfato, per neutralizzare il residuo di cloro libero normalmente presente nelle acque di acquedotto. Il

campione è poi stato processato tramite la tecnica di filtrazione su membrana (FM). Tale metodica si avvale di:

- sistema filtrante: l'apparato, sterilizzabile a secco, costituisce lo strumento principale per l'esecuzione della FM nei campioni dell'acqua. Costituito da una rampa di acciaio inossidabile con 3 coni graduati da 500 mL, disposti in serie.



Fig. 7- Rampa di filtrazione.

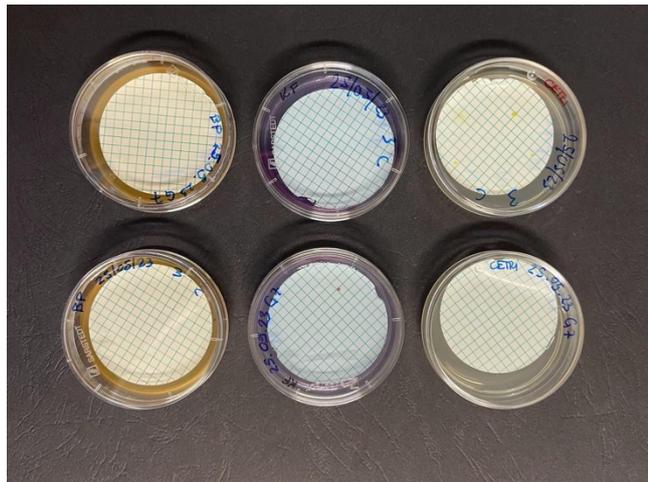


Fig. 8 - Membrane filtranti con reticolo.

- membrane e terreni di Agar: per l'analisi del campione d'acqua sono state utilizzate membrane di cellulosa-acetato (AC) della Sartorius, del diametro di 50 mm e di porosità nominale pari a $0,45\mu\text{m}$ ($\pm 0,02\mu\text{m}$). Tali membrane presentano una porosità che consente di trattenere sulla superficie i batteri presenti nell'acqua campionata. Le membrane vengono successivamente poste in capsule petri contenenti terreno agar solido e vengono incubate ad idonee temperature e tempistiche di crescita.
- parametri indicatori considerati: conta microbica totale a 22°C (mesofili) e 37°C (mesofili) su Plate Count Agar (PCA); coliformi totali 37°C e fecali 44°C su agar cromogeno C-EC; *Pseudomonas aeruginosa* a 37°C su agar cetrimide; clostridi

solfito-riduttori su agar Sulphite Polymyxin Suphadiazine (SPS). I terreni agar sono tutti prodotti dalla ditta Biolife Italia.

3.6. Valutazione dell'abbattimento microbico percentuale

Il presente lavoro di tesi è andato ad indagare l'efficacia antimicrobica del sapone, gel idroalcolico e spray idroalcolico, in termini di abbattimento percentuale della carica microbica presente prima (pre) e dopo (post) aver condotto la procedura di igienizzazione delle mani.

Al termine del periodo di incubazione delle piastre petri, come descritto in precedenza, è stato possibile apprezzare visivamente le colonie batteriche ed è pertanto stata eseguita una conta manuale delle stesse, marcando con un pennarello le colonie cresciute sul terreno agar, in corrispondenza di ciascuna impronta digitali, utilizzata durante la sperimentazione. L'unità di misura utilizzata per il conteggio delle colonie è Unità Formanti Colonie (UFC). Successivamente i dati sono stati inseriti in un foglio Excel, suddividendo la tabella per metodo utilizzato (acqua e sapone, gel idroalcolico e spray idroalcolico), pre e post lavaggio delle mani e polpastrello utilizzato (pollice e indice).

Da ultimo è stata condotta un'analisi statistica descrittiva che è andata a valutare:

- il valore massimo e minimo di UFC, separatamente sia per il pollice che per l'indice, per ogni modalità di igienizzazione mani utilizzata;
- la densità media di cariche batteriche presenti sui polpastrelli di ogni partecipante;
- il calcolo dell'abbattimento microbico percentuale (AM%):

L'abbattimento microbico percentuale (AM%) è stato calcolato, partendo dai dati normalizzati relativi alla densità media per ciascuna procedura di igienizzazione, mediante la seguente formula:

$$100 - \left(\frac{x_2}{x_1} * 100\right)$$

dove:

- x_2 corrisponde alla densità di carica batterica presente nel polpastrello dopo il lavaggio delle mani (post);
- x_1 corrisponde alla densità di carica batterica presente nel polpastrello prima del lavaggio delle mani (pre).

Nel caso di densità di cariche batteriche nel post-igienizzazione maggiori di quelle del pre-procedura, il dato ottenuto, risultando matematicamente negativo, è stato valorizzato a zero.

L'AM%, infine, è stato utilizzato per il confronto tra le tre diverse procedure di igienizzazione mani, così da poter identificare l'igienizzante più adatto prima della manipolazione delle lenti a contatto.

4. Risultati

ID	sesso	Acqua e sapone (UFC)				Gel idroalcolico (UFC)				Spray idroalcolico (UFC)			
		pre pollice	pre indice	post pollice	post indice	pre pollice	pre indice	post pollice	post indice	pre pollice	pre indice	post pollice	post indice
1	F	5	11	8	2	28	27	4	5	7	6	0	2
2	M	9	5	61	39	4	66	8	1	23	48	11	24
3	F	16	26	24	8	8	7	4	1	28	3	2	0
4	F	10	8	12	12	11	40	2	2	11	10	6	0
5	M	16	13	48	45	14	6	0	3	24	11	10	4
6	F	sp	sp	85	33	5	1	0	0	2	5	3	4
7	F	6	6	80	30	0	2	0	0	2	0	0	0
8	M	112	78	112	78	27	5	3	0	38	17	30	18
9	M	3	5	24	24	42	10	8	0	5	7	7	10
10	F	13	6	8	2	43	30	6	6	9	8	5	9
11	F	163	112	148	76	20	38	126	57	49	53	12	1
12	F	77	8	89	82	105	51	3	0	11	5	9	3
13	F	84	31	39	21	130	88	1	1	78	9	110	63
14	F	195	72	46	69	21	113	0	0	35	63	12	9
15	F	26	13	43	26	44	22	0	5	5	10	2	1
16	F	1	15	sp	41	43	95	2	4	68	33	34	70
17	F	20	45	35	14	16	15	2	6	26	6	29	8
18	F	1	37	87	54	18	6	10	3	57	64	16	23
19	F	173	95	173	95	28	25	12	5	125	101	90	59
20	F	27	23	27	23	271	120	14	53	22	11	1	5
21	F	53	51	57	55	19	5	1	1	14	3	5	3
22	F	69	55	94	61	20	23	0	0	26	76	4	2
23	F	54	35	31	36	54	41	3	0	25	25	3	1
24	M	27	27	25	13	78	33	45	9	24	11	9	2
25	F	24	5	15	19	4	4	0	0	7	0	2	0
26	F	39	31	25	15	93	15	6	1	35	19	20	10
27	M	139	86	162	116	94	80	18	3	119	99	48	49
28	M	100	71	25	28	229	197	143	9	131	148	100	66
29	F	19	17	19	15	2	3	0	0	15	28	18	18
30	F	74	83	74	83	157	21	13	11	6	16	34	17

Tabella 1 - Dati ottenuti tramite conta batterica dei tre metodi.

4.1. Livelli massimi e minimi di carica microbica

Inizialmente sono stati considerati, per ciascun partecipante, i valori delle conte microbiche relative ad ogni singola impronta, prima (pre) e dopo (post) il lavaggio delle mani e distinguendo così il numero di UFC presenti sui polpastrelli del pollice e dell'indice (*Tabella 1*).

Successivamente sono stati individuati i valori di UFC massimi e minimi per ogni metodica di igienizzazione, come riportato in *Tabella 2*:

	H2O PRE	H2O POST	GEL PRE	GEL POST	SPRAY PRE	SPRAY POST
POLLICE MIN	3	8	0	0	2	0
POLLICE MAX	195	162	271	143	131	110
INDICE MIN	5	2	1	0	0	0
INDICE MAX	112	116	197	57	148	63

Tabella 2 - Massimi e minimi di pollice e indice.

4.2. Metodica 1: Lavaggio acqua e sapone

La prima metodica prevedeva l'esecuzione del semplice lavaggio mani con acqua e sapone, quale metodo di igienizzazione. Nel complesso, non si è notata una marcata diminuzione della carica batterica tra la metà del pre-lavaggio e quella del post-lavaggio.

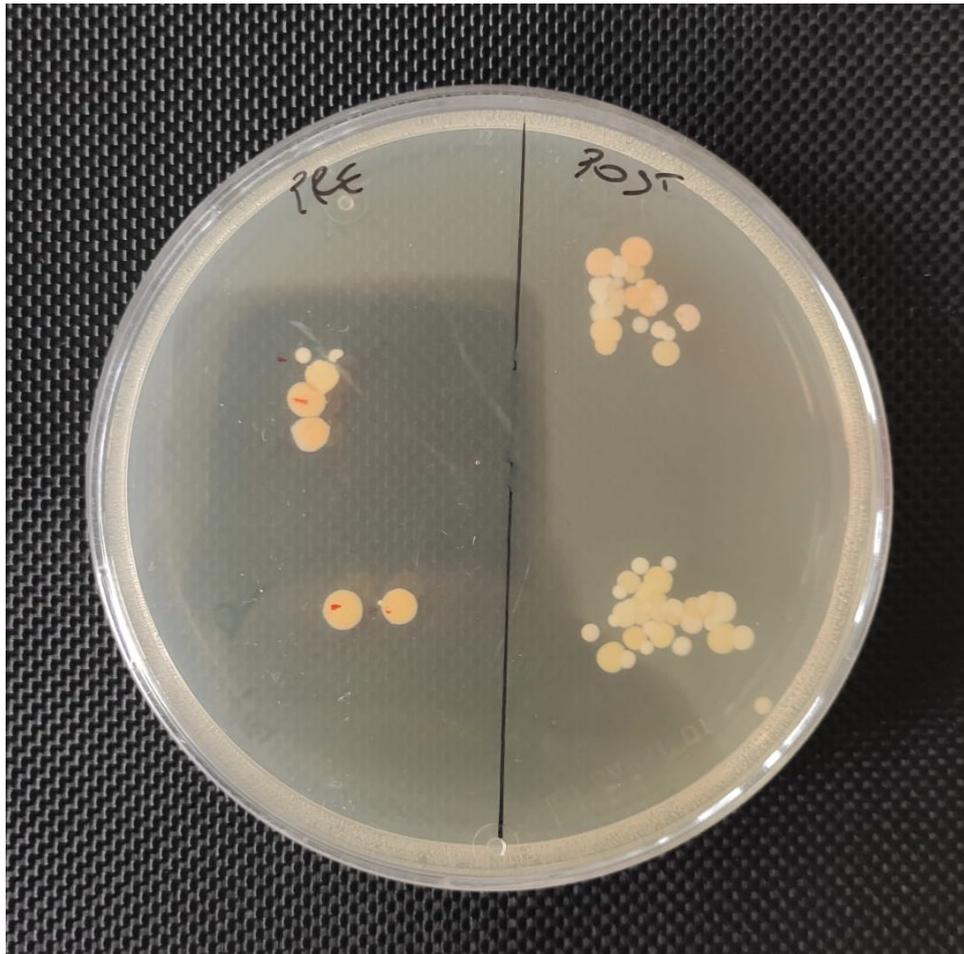


Fig. 9 - Esempio di aumento di carica batterica con la procedura del lavaggio mani con acqua e sapone.

4.3. Metodica 2: gel idroalcolico

Nel secondo esperimento, eseguito con il gel igienizzante si è osservata una netta diminuzione della carica batterica presente dopo l'igienizzazione delle mani rispetto all'impronta eseguita prima della procedura di lavaggio.

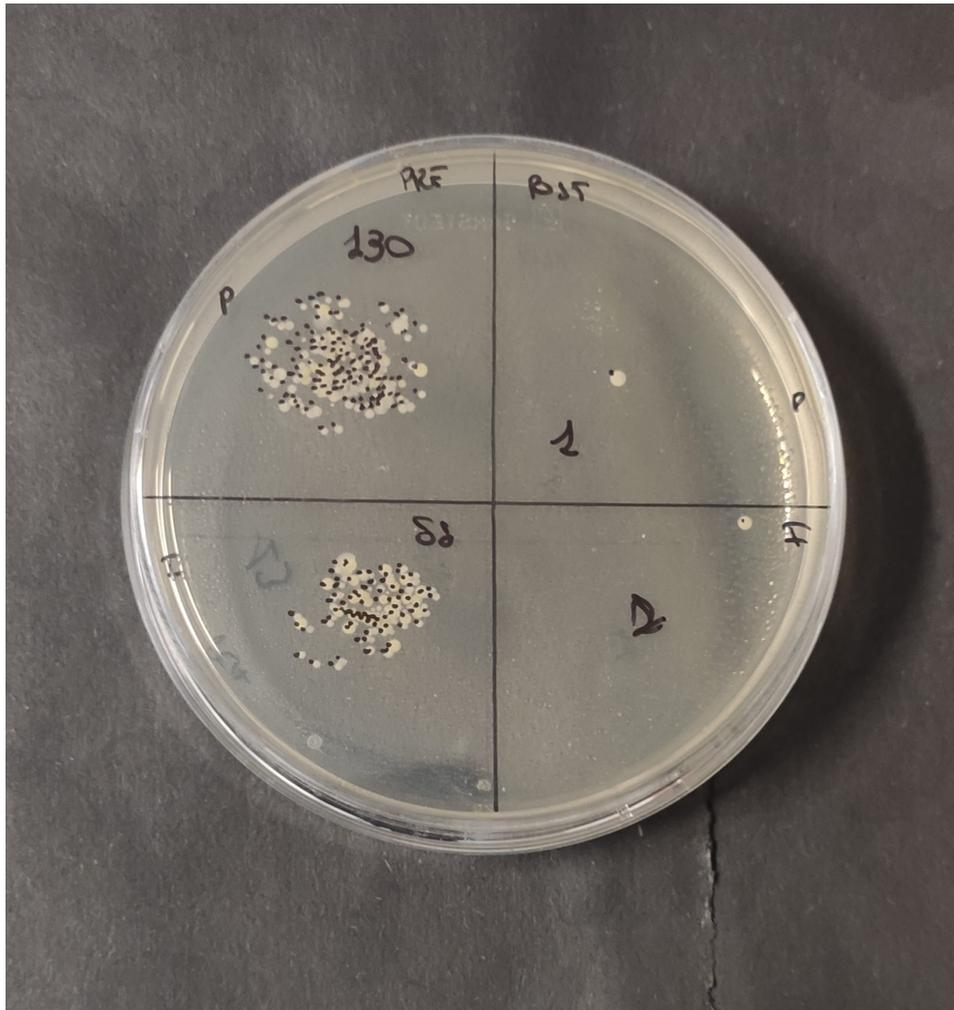


Fig. 10 - Lavaggio mani con gel.

4.4. Metodica 3: spray idroalcolico

Con la terza procedura, eseguita utilizzando spray idroalcolico, si è riscontrata una diminuzione della carica batterica presente nelle impronte effettuate nella piastra Agar dopo aver eseguito l'igienizzazione delle mani.

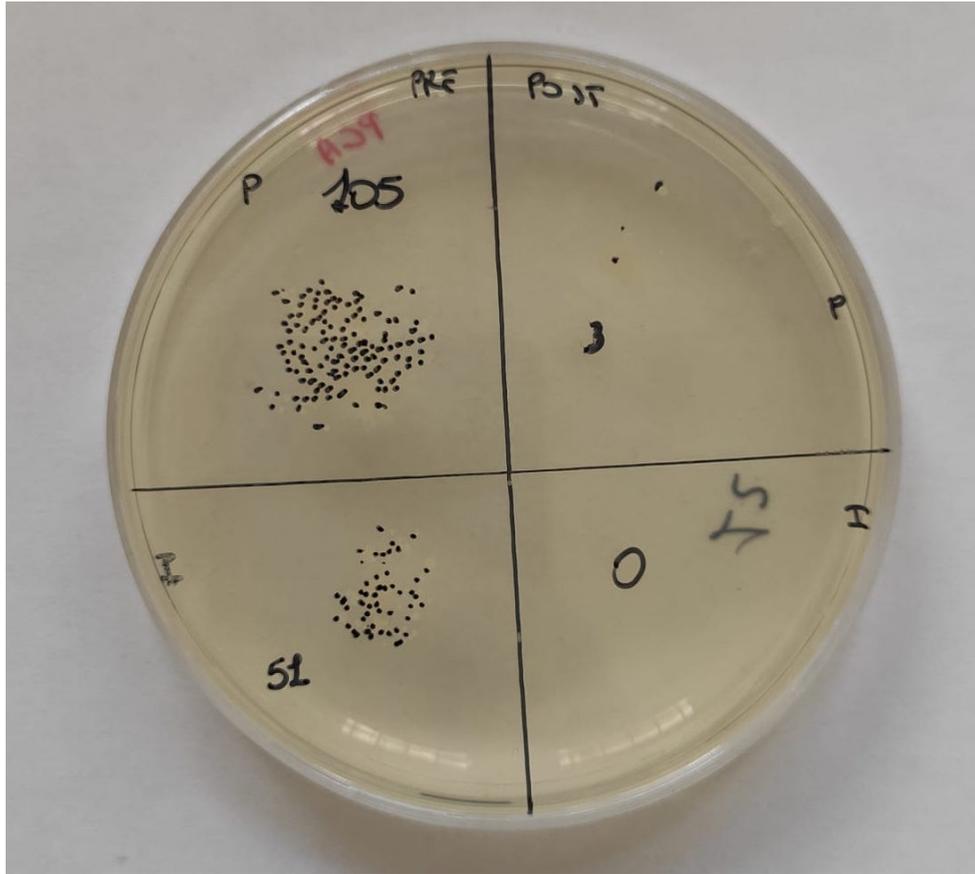


Fig. 11 - Lavaggio mani con spray idroalcolico.

4.5. Carica microbica media

Prendendo in esame la superficie media dei polpastrelli di pollice e indice del sesso femminile e maschile (Tabella 3), nella sperimentazione è stata analizzata la densità media della carica batterica, sempre espressa in UFC per impronta, dei 30 candidati, sia prima che dopo l'esecuzione delle tre diverse procedure di igienizzazione.

	Pollice (cm ²)	Indice (cm ²)
donna	6,00	3,73
uomo	7,35	5,00

Tabella 3 - Superficie dei polpastrelli di pollice e indice.

La formula utilizzata è:

$$\frac{x_p}{s_p} + \frac{x_i}{s_i}$$

Dove:

- x_p corrisponde al numero di cariche batteriche presenti sull'impronta relativa al polpastrello del pollice;
- x_i corrisponde al numero di cariche batteriche presenti sull'impronta relativa al polpastrello dell'indice;
- s_p corrisponde alla superficie media del polpastrello del pollice;
- s_i corrisponde alla superficie del polpastrello dell'indice.

In questo modo, è stato possibile valutare l'efficacia di ogni metodo di igienizzazione nella riduzione della carica batterica, normalizzando i dati in base alla densità effettiva delle UFC / cm² ed evitando bias relativi al sesso del soggetto reclutato.

Infine si è calcolata la densità media per ogni metodica di igienizzazione eseguita, sempre distinguendo il pre- e il post- lavaggio (Tabella 4).

	H2O	GEL	SPRAY
PRE	17.0	17.1	16.9
POST	18.8	3.8	7.0

Tabella 4 - Densità media espressa in UFC/cm² di batteri presenti sulla superficie dei polpastrelli di pollice indice per ogni procedura.

4.6. Abbattimento microbico percentuale

Il lavaggio con acqua e sapone ha mostrato un AM pari al 15,2%. L'utilizzo del gel idroalcolico un AM del 80,6% e lo spray idroalcolico del 41,5% (Figura 13).

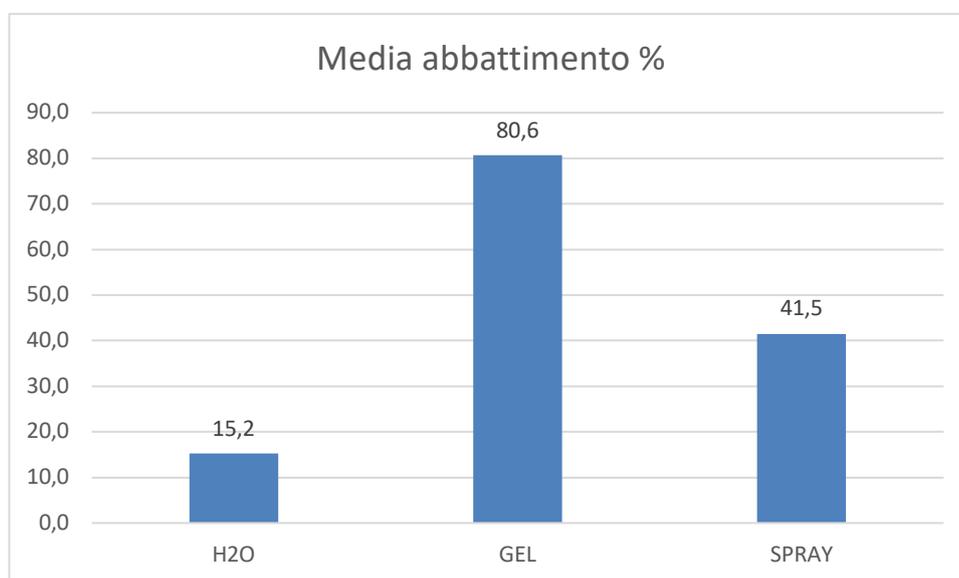


Fig. 12 - Istogramma dell'abbattimento microbico medio percentuale per ciascuna procedura di igienizzazione.

4.7. Analisi microbiologica dell'acqua di rete

Dopo aver osservato i risultati del metodo di igienizzazione con acqua e sapone, che ha mostrato un abbattimento microbico inferiore rispetto agli altri due metodi testati, è stata effettuata l'analisi dell'acqua di rete utilizzata per il lavaggio mani durante la sperimentazione.

Questa analisi ha permesso di accertare che l'acqua utilizzata non fosse contaminata da batteri, così da poter essere certi che i risultati non fossero stati influenzati dalla qualità dell'acqua utilizzata per il lavaggio delle mani.

Parametro	UFC / mL	Limite D.Lgs. 31/2001
Conta microbica totale 22°C	0 UFC / 1 mL	100
Conta microbica totale 37°C	1 UFC / 1 mL	20
Coliformi totali 37°C	0 UFC / 100 mL	0
Coliformi fecali 44°C	0 UFC / 100 mL	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 UFC / 250 mL	0
Clostridi solfito-riduttori	0 UFC / 100 mL	0

Tabella 5 - Confronto tra risultati ottenuti dall'analisi microbiologica dell'acqua di rete e i limiti di legge.

Il limite della conta batterica totale (CMT) a 37°C, che corrisponde alla temperatura del corpo umano, rappresenta il criterio più restrittivo perché potrebbe includere potenziali patogeni.

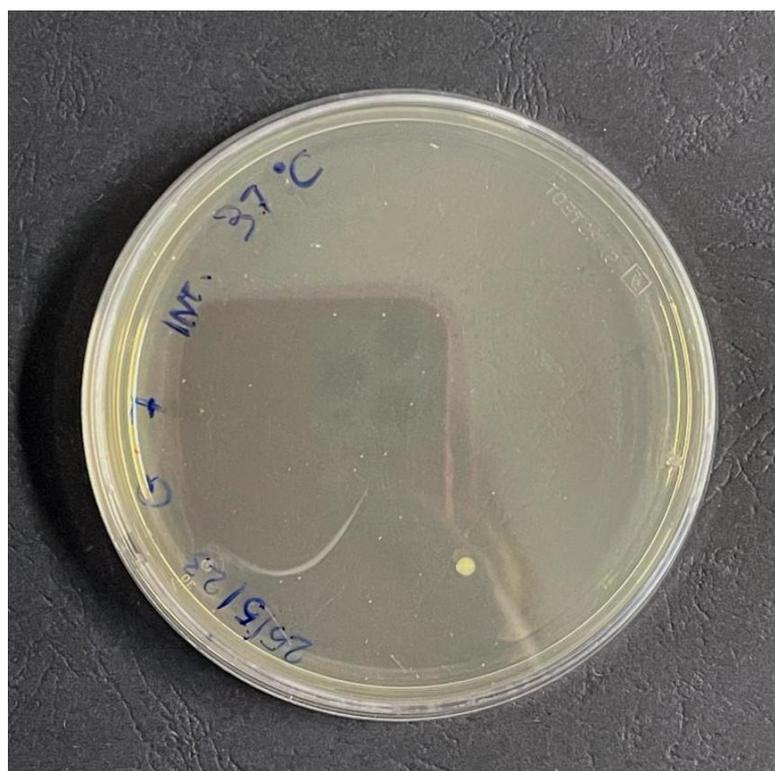


Fig. 13 - Analisi batterica dell'acqua per il lavaggio delle mani.

Come evidenziato in *Fig. 13*, sulla superficie superiore del terreno di Agar è stata osservata solamente un'unica colonia batterica macroscopica (conta microbica totale CMT a 37°C pari a 1 UFC/mL), la quale indica che la quantità di batteri presenti nell'acqua campionata è molto bassa. Questi risultati suggeriscono che l'acqua utilizzata per la sperimentazione non è stata contaminata da una quantità significativa di batteri che potessero influenzare i risultati delle analisi.

5. Discussione

5.1. Covid-19: considerazioni generali

Il virus, noto come Coronavirus, prende il nome dalla parola latina “corona” a causa delle sporgenze simili a una corona sulla superficie.

Questa minaccia globale ha avuto inizio nella città di Wuhan, alla fine di dicembre 2019 e si è diffusa rapidamente in molti paesi del mondo: i primi Paesi ad essere stati colpiti sono la Thailandia, il Giappone, la Corea del sud, Singapore e l’Iran. Nel mese di marzo 2020, l’Organizzazione Mondiale della Sanità ha dichiarato lo stato di emergenza sanitaria internazionale, ufficializzando l’epidemia intercontinentale di COVID-19 quale vera e propria pandemia.

Si ritiene che la malattia abbia una fonte zoonotica, con un salto di specie avvenuto verso l’uomo da animali selvatici come pipistrelli o altri ospiti intermedi presenti nel mercato locale del pesce di Wuhan.

La diffusione del virus avviene principalmente per via diretta, la quale prevede più opzioni:

- inalazione di goccioline respiratorie emesse da un soggetto infetto;
- strette di mano;
- interazioni con superfici contaminate e successiva introduzione del patogeno in una delle vie di penetrazione dello stesso, come ad esempio occhi, naso e bocca.

Alcuni studi hanno però mostrato come SARS-CoV-2 possa anche trasmettersi per via aerea, con modalità di trasmissione indiretta.

SARS-CoV-2 TRANSMISSION

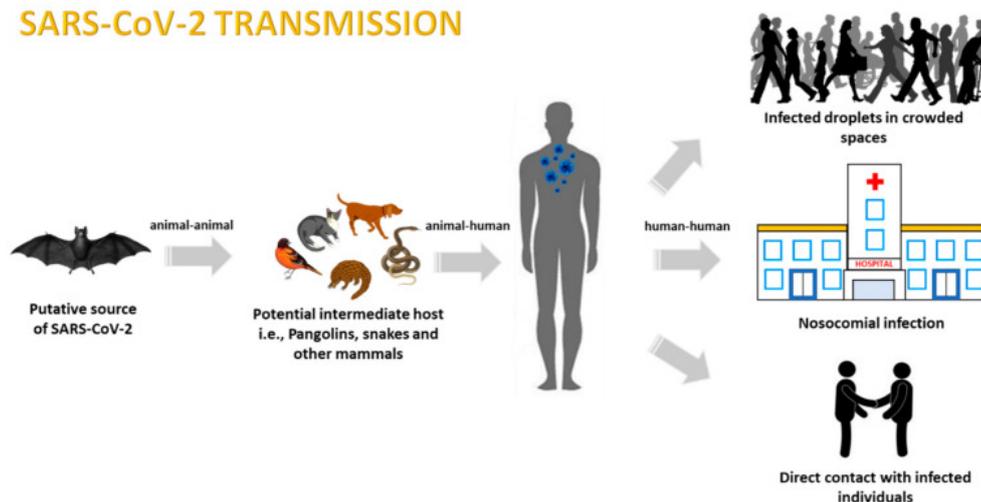


Fig. 14 - Meccanismo del salto di specie per SARS-CoV-2 e principali modalità di trasmissione.

Lo spettro di malattia indotto dal Coronavirus va dal quadro asintomatico, a quello caratteristico di coinvolgimento delle vie respiratorie umane, con sintomatologia che può variare da lieve raffreddore a polmonite, in un contesto di grave sindrome da stress respiratorio. Sono state descritte anche manifestazioni sistemiche e coinvolgimento multi-organo.

Il COVID-19 è un virus a RNA, e in quanto tale caratterizzato da un tasso di mutazione elevato. Ciò è dovuto infatti alle caratteristiche della sua polimerasi virale, che durante il processo di replicazione non corregge efficientemente gli errori di inserimento di basi azotate erranee, portando così ad un tasso di mutazione elevato, che consente una rapida evoluzione molecolare del virus, in termini di infettività e tropismo.

I coronavirus appartengono alla sottofamiglia delle Coronavirinae e sono suddivisi in quattro generi:

- *Alphacoronavirus*;
- *Betacoronavirus*;

- *Gammacoronavirus*;
- *Deltacoronavirus*.

Il genoma del virus è costituito da RNA a senso positivo, che ha una percentuale maggiore di mutazione rispetto ai virus a DNA, accelerando il processo di adattamento per la sopravvivenza.

Il genoma del virus codifica per quattro proteine principali:

- Proteine spike (S);
- Membrana (M);
- Envelope (E);
- Nucleocapside (N);
- Proteine accessorie (polimerasi) per i processi replicativi.

La proteina S è responsabile dell'attacco del virus ai recettori della superficie della cellula ospite, portando alla fusione e all'ingresso dell'involucro virale della cellula. La proteina M è la più abbondante e definisce la forma dell'involucro virale, mentre la proteina E è la più piccola, la quale partecipa all'assemblaggio virale e alla gemmazione. La proteina N è l'unica che si lega al genoma dell'RNA ed è coinvolta nell'assemblaggio virale e nella gemmazione.

La replicazione dei coronavirus inizia con le fasi denominate "attacco" e "ingresso". L'attacco del virus alla cellula ospite è innescato dalle interazioni tra la proteina S e il recettore specifico (ACE2). Una volta legato al recettore, il virus entra nel citosol della cellula ospite attraverso la scissione della proteina S da parte di un enzima proteasi, seguita dalla fusione della membrana virali e cellulare.

La fase successiva è la traduzione del gene della replicasi dall'RNA genomico del virione e quindi la traduzione e l'assemblaggio dei complessi della replicasi virale. Dopo la replicazione e la sintesi dell'RNA subgenetico, si verifica l'incapsulamento che porta alla formazione di nuove particelle virali mature. I virioni vengono infine trasportati sulla superficie cellulare all'interno di vescicole e rilasciati per esocitosi.

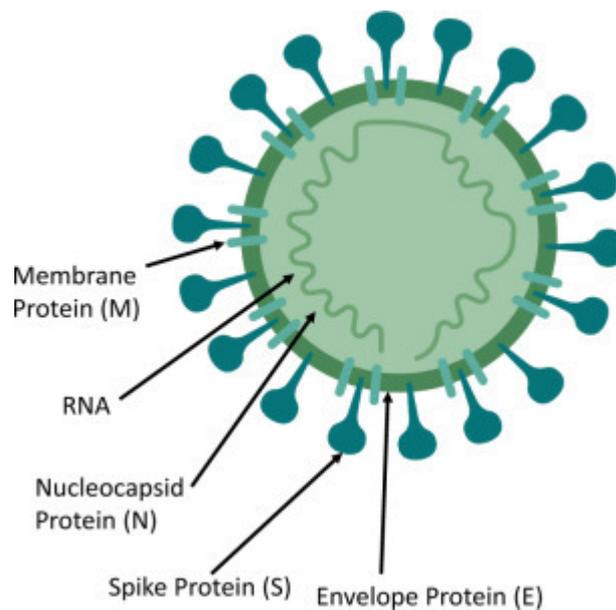


Fig. 15 - Struttura dei coronavirus

5.2. Relazione tra lenti a contatto e Covid-19

La lente a contatto è una tipologia di correzione utilizzata da 140 milioni di persone in tutto il mondo. Dal punto di vista epidemiologico, le complicanze correlate all'utilizzo di lenti a contatto mostrano una bassa percentuale di cheratite microbica o cheratite infiammatoria sintomatica nell'uso delle lenti a contatto, e un aumento dell'incidenza di rischio di cheratite batterica durante l'applicazione notturna. Ad ogni modo l'occhio, la superficie oculare e il

film lacrimale dispongono di un meccanismo di difesa, con barriere epiteliali ed enzimatiche, che aiutano a diminuire la possibilità di contrarre infezioni nella cornea e nella congiuntiva. A inizio pandemia uno studio (*Jianhua Xia et al., 2020*) ha discusso la mancanza di prove affermanti la maggiore probabilità di contrarre il virus nei portatori di lenti a contatto rispetto ai portatori di occhiali. Il Covid-19, trasferendosi per contatto con le mani avrebbe potuto trasferirsi sulla lente a contatto tramite la pratica di applicazione e di rimozione.

I coronavirus possono provocare un ampio spettro di patologie oculari:

- nel segmento anteriore, in quanto la congiuntiva è molto esposta a goccioline e a mani infette, provocando ad esempio la congiuntivite o cheratocongiuntivite. Si pensa, dunque, che la congiuntiva sia un portale di accesso per i virus respiratori, mentre le secrezioni congiuntivali e lacrimali possono ospitare virus e diffondere l'infezione virale;
- nel segmento posteriore originando retinite e neurite ottica.

A causa del modello di diffusione del Covid-19 si è sollevata una preoccupazione per l'aumento del rischio di contrarre il virus per i portatori di lenti a contatto poiché, durante l'applicazione e la rimozione delle lenti, il portatore deve toccarsi gli occhi. Il consiglio per proteggere le persone dall'esposizione al virus è quello di adottare frequenti lavaggi delle mani con acqua e sapone. Tale indicazione dovrebbe essere impartita indipendentemente dalla pandemia, e utilizzato nella vita quotidiana. L'igienizzazione delle mani dovrebbe infatti essere effettuata prima dell'applicazione e rimozione delle lenti a contatto, in modo tale da ridurre i rischi di infezione e risposte infiammatorie.

Per diminuire il rischio di contrarre il virus, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha consigliato di:

- lavarsi frequentemente le mani per circa 20 secondi con acqua e sapone, specialmente dopo aver frequentato un luogo pubblico;
- in mancanza di acqua e sapone igienizzarsi le mani con un disinfettante, il quale contenga come minimo il 60% di alcol;
- evitare di toccarsi occhi, naso e bocca se le mani non sono state igienizzate.

Una buona igiene delle mani previene la diffusione di varie malattie come il Covid-19. Il lavaggio delle mani con acqua e sapone e l'utilizzo di disinfettanti per le mani sono aumentati enormemente durante la pandemia di Coronavirus.

5.3. L'importanza dell'igienizzazione delle mani

Le mani sono spesso considerate un mezzo comune per la trasmissione di infezioni respiratorie poiché possono entrare in contatto con superfici contaminate trasferendo i germi alle mucose del viso durante il tocco.

Uno studio osservazionale condotto su studenti di medicina ha analizzato la frequenza con cui questi si toccano il viso. Si è scoperto che in media ogni studente si è toccato il viso 23 volte l'ora. Di questi tocchi, il 44% ha comportato il contatto con la membrana mucosa, come gli occhi, il naso e la bocca, mentre il 56% ha coinvolto aree non mucose come le orecchie, le guance, il mento e la fronte. Tra i tocchi delle mucose, il 36% ha riguardato la bocca, il 31% il naso, il 27% gli occhi e il 6% è stato una combinazione di queste regioni.

Questi risultati evidenziano l'importanza dell'igiene delle mani per prevenire la diffusione di infezioni respiratorie e sottolineano la necessità di evitare di toccare il viso con le mani non lavate.

L'igienizzazione delle mani attraverso l'utilizzo di saponi o disinfettanti è considerata la misura preventiva di prima linea per combattere la diffusione del Covid-19.

Saponi e detergenti sono tensioattivi che vengono sintetizzati a partire da prodotti petrolchimici e agiscono riducendo la tensione superficiale e interfacciale tra le due fasi.

I disinfettanti per le mani sono diventati molto comuni poiché possono essere facilmente trasportati e utilizzati quando non è possibile accedere alle strutture per il lavaggio delle mani. Tuttavia, non tutti i disinfettanti sono efficaci.

L'OMS ha raccomandato l'utilizzo di disinfettanti per le mani a base di alcool, i quali possono essere facilmente prodotti localmente seguendo adeguate formulazioni. Queste formulazioni contengono:

- Etanolo;
- Alcool isopropilico;
- Perossido di idrogeno;
- Glicerolo;
- Diluito con acqua distillata sterilizzata o acqua bollita.

Il meccanismo di uccisione dei microrganismi da parte di saponi, detergenti e alcol si basa sulla capacità di distruggere la membrana lipofila presente sulla parete cellulare di batteri e altri microrganismi, compresi i virus avvolti.

La letteratura scientifica indica che l'etanolo è altamente efficace contro tutti i virus con involucro clinicamente rilevanti, inclusi i coronavirus e i virus dell'influenza, e che può inattivare completamente il virus entro 30 secondi. Per questo motivo i disinfettanti per le

mani a base di alcol con contenuto alcolico maggiore del 60% v/v sono comuni e raccomandati da organizzazioni come l'OMS e il Centers for Disease Control and Prevention degli Stati Uniti.

Uno studio recente condotto da Kratzel et al. (*Kratzel et al., 2020*) ha dimostrato che il SARS-CoV_2, il virus responsabile della pandemia di Covid-19, può essere efficacemente inattivato dall'etanolo e dal 2-propanolo a concentrazioni maggiori del 30% v/v, nonché dai due preparati disinfettanti per le mani raccomandati dall'OMS. Questo è il motivo per cui il lavaggio delle mani con sapone e l'utilizzo di disinfettanti per le mani a base alcolica sono stati raccomandati come misure di igiene essenziali per prevenire la diffusione del Covid-19.

Tuttavia, è importante notare che per i portatori di lenti a contatto, l'utilizzo di igienizzanti per le mani a base alcolica potrebbe causare alcuni problemi specifici. Quando questi prodotti entrano in contatto con gli occhi o con le lenti a contatto, possono causare bruciore, irritazione e potenziali danni alla lente stessa.

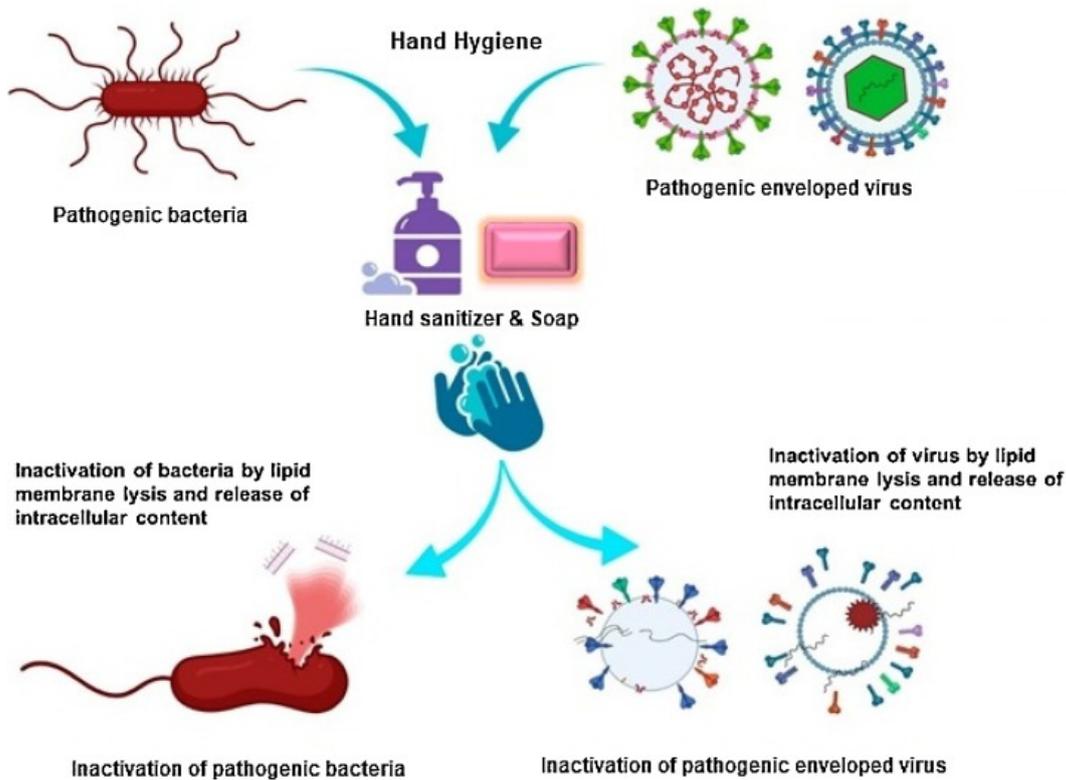


Fig. 16 - Igienizzazione delle mani con sapone e disinfettanti per le mani a base di alcol.

5.4. Discussione dati sperimentali

L'obiettivo di questo studio è quello di identificare quale metodo di igienizzazione mani sia più efficace nella riduzione della carica batterica presente sulle mani prima dell'applicazione delle lenti a contatto.

L'analisi dei dati ottenuti ha evidenziato come l'utilizzo del gel idroalcolico sia risultato molto più efficace rispetto al lavaggio con acqua e sapone nella riduzione della carica batterica presente sulle mani.

In particolare, l'uso del gel idroalcolico ha determinato un abbattimento medio del 80,6% della carica batterica.

Al contrario, il lavaggio delle mani con acqua e sapone ha mostrato un basso abbattimento batterico pari al 15,2% e, in alcuni casi, addirittura un aumento della carica batterica presente nella sezione post-lavaggio rispetto alla sezione pre-lavaggio, come evidenziato in alcune piastre.

Di conseguenza, i risultati della sperimentazione suggeriscono chiaramente che l'utilizzo del gel idroalcolico sia il metodo di igienizzazione mani più efficace nella riduzione della carica batterica prima dell'applicazione delle lenti a contatto, mentre l'utilizzo di acqua e sapone potrebbero non essere sufficiente per ridurre al minimo il rischio di infezioni batteriche.

I saponi, a differenza dei gel idroalcolici, non contengono ingredienti attivi come attività antimicrobica, ad eccezione dei conservanti utilizzati per evitare la crescita batterica all'interno del prodotto. Per questo motivo esistono pochi dati in vitro sull'efficacia antimicrobica del sapone.

Tuttavia, l'utilizzo di acqua e sapone per il lavaggio è comunque efficace nel ridurre il numero di microrganismi presenti sulle mani mediante rimozione meccanica dei microrganismi poco aderenti. Esistono numerosi studi che dimostrano l'efficacia del lavaggio con acqua e sapone nella rimozione della flora batterica transitoria presente sulle mani.

Sono stati condotti studi per valutare l'efficacia del lavaggio nella "vita reale". Ad esempio (*Larson et al. 2002*), in un gruppo di 224 casalinghe sane, è stato osservato che un singolo lavaggio delle mani ha avuto un impatto minimo sui conteggi microbici.

In un altro studio (*Larson et al. 1986*), che ha coinvolto 11 volontari, i partecipanti si sono lavati le mani per 15 secondi solo con acqua, per un totale di 24 volte al giorno per 5 giorni.

In questo caso, è stato riscontrato un lieve aumento delle conte batteriche anche quando è stata utilizzata la saponetta.

Inoltre, alcuni autori hanno riportato risultati paradossali riguardo all'aumento della conta batterica sulla pelle dopo il lavaggio delle mani con il semplice sapone.

Alcuni studi hanno esaminato solo i microrganismi rimanenti sulle mani dopo il lavaggio, e hanno descritto l'igienizzazione delle mani con acqua e sapone come inefficace nell'eliminazione degli adenovirus delle mani, suggerendo che la rimozione meccanica non fosse completa.

Ogni volta che le mani vengono lavate, il processo può danneggiare lo strato idrolipidico della pelle superficiale. Questo può causare la perdita di molteplici agenti protettivi, come aminoacidi e fattori protettivi antimicrobici.

Se si effettuano numerosi lavaggi delle mani di seguito, la rigenerazione del film protettivo potrebbe non essere sufficiente, portando al danneggiamento della funzione di barriera dello strato corneo.

Inoltre, questo processo può aumentare la perdita di acqua transepidermica e rendere la pelle più permeabile agli agenti tossici. Allo stesso tempo, le cellule superficiali della pelle possono seccarsi, causando la desquamazione dello strato corneo. Inizialmente, questo avviene a livello microscopico, ma con il tempo può diventare evidente anche al livello macroscopico.

Per anni si è pensato che i saponi naturali con valori di pH elevati fossero più irritanti per la pelle rispetto ai detergenti sintetici con pH neutro o acido. Tuttavia, studi successivi hanno scoperto che il pH è meno importante di altre caratteristiche del prodotto come causa di irritazione cutanea.

In alcuni studi, i saponi semplici hanno causato meno irritazione cutanea rispetto ai detergenti sintetici, mentre in altri, le saponette semplici hanno causato una maggiore irritazione cutanea rispetto a un detergente sintetico contenente antimicrobici.

Il lavaggio frequente delle mani può causare la comparsa di dermatite irritativa da contatto (ICD) e pelle secca, che possono essere colonizzate da agenti patogeni nosocomiali. Questi microrganismi possono essere trasferiti da una persona all'altra in ambiente sanitario o ospedaliero e sono particolarmente preoccupanti perché possono essere resistenti ai farmaci e causare infezioni associate all'assistenza sanitaria, che possono essere difficili da trattare. Un singolo lavaggio delle mani può ridurre significativamente il contenuto di sebo dermico, e questa riduzione può durare fino a un'ora. Inoltre, il lavaggio può diminuire l'idratazione della pelle.

Se le mani vengono lavate quattro volte o più entro un'ora, la pelle potrebbe non recuperare il suo stato normale entro questo periodo.

In generale, il sapone semplice non ha praticamente alcuna attività antimicrobica. Sebbene un singolo lavaggio delle mani possa ridurre i batteri transitori da 0,5 a 3 log₁₀ unità, non ha alcun effetto significativo sulla flora residente (tipicamente Gram-negativa) delle mani. Inoltre, la tollerabilità cutanea del lavaggio è piuttosto scarsa.

Durante l'utilizzo di gel idroalcolico nell'igienizzazione per la manipolazione delle lenti a contatto è importante prestare attenzione al fatto che possa contenere sostanze chimiche che potrebbero danneggiare la lente a contatto.

Dunque, è consigliabile attendere che il gel si asciughi completamente prima di applicare le lenti a contatto.

In alternativa all'uso dell'acqua e sapone e del gel idroalcolico si può utilizzare uno spray idroalcolico, il quale ha dimostrato di avere un abbattimento batterico pari al 41,5%, risultando così un metodo efficace nella riduzione della carica batterica presente sulle mani. Tuttavia, è importante prestare attenzione al fatto che lo spray idroalcolico si asciuga molto velocemente, quindi è necessario spruzzare una quantità adeguata di prodotto sulle mani per consentire il tempo necessario per l'azione dell'agente antibatterico presente nella soluzione. Inoltre, contenendo sostanze chimiche simili al gel idroalcolico, è consigliabile aspettare che le mani siano completamente asciutte prima della manipolazione delle lenti a contatto. L'applicazione diretta dello spray idroalcolico sugli occhi o sulle lenti può causare bruciore, irritazione e potenziali danni alle lenti.

6. Conclusioni

Il mantenimento adeguato delle lenti a contatto è fondamentale, soprattutto quando vengono utilizzate per periodi prolungati.

Durante ogni fase dell'utilizzo, le lenti possono accumulare sporco e contaminarsi. Le soluzioni di manutenzione svolgono un ruolo essenziale nel pulire, decontaminare e preservare le lenti, al fine di prevenire problemi infettivi e migliorare il confort di chi ne fa uso.

Come già visto in precedenza, la contaminazione delle lenti a contatto può derivare principalmente dalle mani, dalle soluzioni detergenti, dalle custodie di conservazione, dall'acqua e dall'ambiente circostante.

I microrganismi patogeni più comuni sono Gram-positivi, funghi e amebe. Inoltre, le lenti possono accumulare depositi organici o di altra natura. La presenza di tali aumenta il rischio di infezioni, poiché forniscono fonte nutritiva per i germi e possono causare disagio durante l'uso delle lenti.

Pertanto, è essenziale seguire correttamente la procedura di manutenzione consigliate per le lenti a contatto, al fine di garantire la sicurezza, la pulizia e il confort durante il loro utilizzo.

Una delle prime fasi fondamentali per una corretta manutenzione è il lavaggio accurato delle mani con acqua e sapone.

Tuttavia, dopo aver completato la sperimentazione, è emerso che il gel idroalcolico e lo spray idroalcolico sono più efficaci nel ridurre la carica batterica rispetto all'utilizzo di acqua e sapone per l'igiene delle mani prima dell'applicazione delle lenti a contatto.

Queste formulazioni a base di alcol offrono una maggiore protezione contro la contaminazione microbica, contribuendo a prevenire potenziali infezioni oculari.

Tuttavia, è fondamentale tenere presente che sia il gel idroalcolico che lo spray idroalcolico contengono componenti chimiche che potrebbero causare danni alle lenti a contatto. Il contatto diretto di queste soluzioni con l'occhio può provocare irritazioni e bruciore.

Pertanto, se si decide di utilizzare il gel idroalcolico o lo spray idroalcolico come igienizzanti mani prima dell'applicazione delle lenti a contatto, è consigliabile assicurarsi che le mani siano completamente asciutte. In questo modo, si riduce il rischio di trasferire residui di prodotto chimico alle lenti e agli occhi stessi, evitando potenziali irritazioni o danni.

7. Bibliografia

1. Achlesh Daverey and Kasturi Dutta, COVID-19: Eco-friendly hand hygiene for human and environmental safety. *J Environ Chem Eng*. 2021 Apr; 9(2): 104754.
2. Allyson L. Byrd, Yasmine Belkaid, Julia A. Segre, The human skin microbiome. *Nature Review Microbiology*. 15 January 2018; 16: 143-155.
3. Cavuoto Kara M., Banerjee Santanu, Galor Anat, Relationship between the microbiome and ocular health. *The Ocular Surface*. 2019 luglio; 17: 384-392
4. Chang, Chih-Chiun Jamie; Winn, Bryan J., Perturbations of the ocular surface microbiome and their effect on host immune function. *Current Opinion in Ophthalmology*. Marzo 2023; 34: 181-188.
5. Chuan-bin Sun, Yue-ye Wang, Geng-hao Liu, and Zhe Liu, Role of the Eye in Transmitting Human Coronavirus: What We Know and What We Do Not Know. *Front Public Health*. 2020; 8:155.
6. Gomes, José Álvaro P. MD, PhD; Frizon, Luciana MD; Demeda, Vanessa F. MD, Ocular surface microbiome in health and disease. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*. Novembre-dicembre 2020; 9(6): 505-511
7. Günter Kampf and Axel Kramer, Epidemiologic Background of Hand Hygiene and Evaluation of the Most Important Agents for Scrubs and Rubs. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004 Oct; 17(4): 863-893.
8. “How to handwash and handrub”. *World Health Organization*. 10 October 2006.
9. Ivan Seah, Xinyi Su, and Gopal Lingam, Revisiting the dangers of the coronavirus in the ophthalmology practice. *Eye (Lond)*. 2020 Jun; 34(7): 115-1157.

10. Jianhua Xia, Jianping Tong, Mengyun Liu, Ye Shen, e Dongyu Guo, Evolution of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *J. Med. Virol.* 2020 Jun; 94(6):589-594
11. Kittipibul Thanachaporn, Puangsricharern V., The Ocular Microbiome in Stevens-Johnson Syndrome. *Frontiers in Medicine.* 2021; 8:645053.
12. L. Bloise, Surveillance, hygiene et entretien des lentilles de contact contact lens care and maintenance. *Journal Français d'Ophtalmologie.* 2017 April; 40(4): 329-337.
13. Lederberg J, McCray AT. "Ome Sweet" Omics: A genealogical treasure of words. *Lo scienziato.* 2001; 15 (7): 8–8
14. Lyndon Jones, Karen Walsh, Mark Willcox, Philip Morgan, and Jason Nichols, The COVID-19 pandemic: Important considerations for contact lens practitioners. *Cont. Lens Anterior Eye.* 2020 Jun; 43(3): 196-203.
15. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbioma.* 2015; 3:31
16. May M. Bakkar and Eman A. Alzghoul, Assessment of contact lens wearers' attitude towerd contact lens wear and care during Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic: A cross-sectional online survey. *Cont. Lens Anterior Eye.* 2021 Dec; 44(6): 101410.
17. Miller, Darlene; Iovieno, Alfonso, The role of microbial flora on the ocular surface. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology.* Ottobre 2009; 9: 466-470.
18. Nina N. Schommer and Richard L. Gallo, Structure and function of the human skin microbiome. *Trend Microbiol.* 2016 Feb 6.

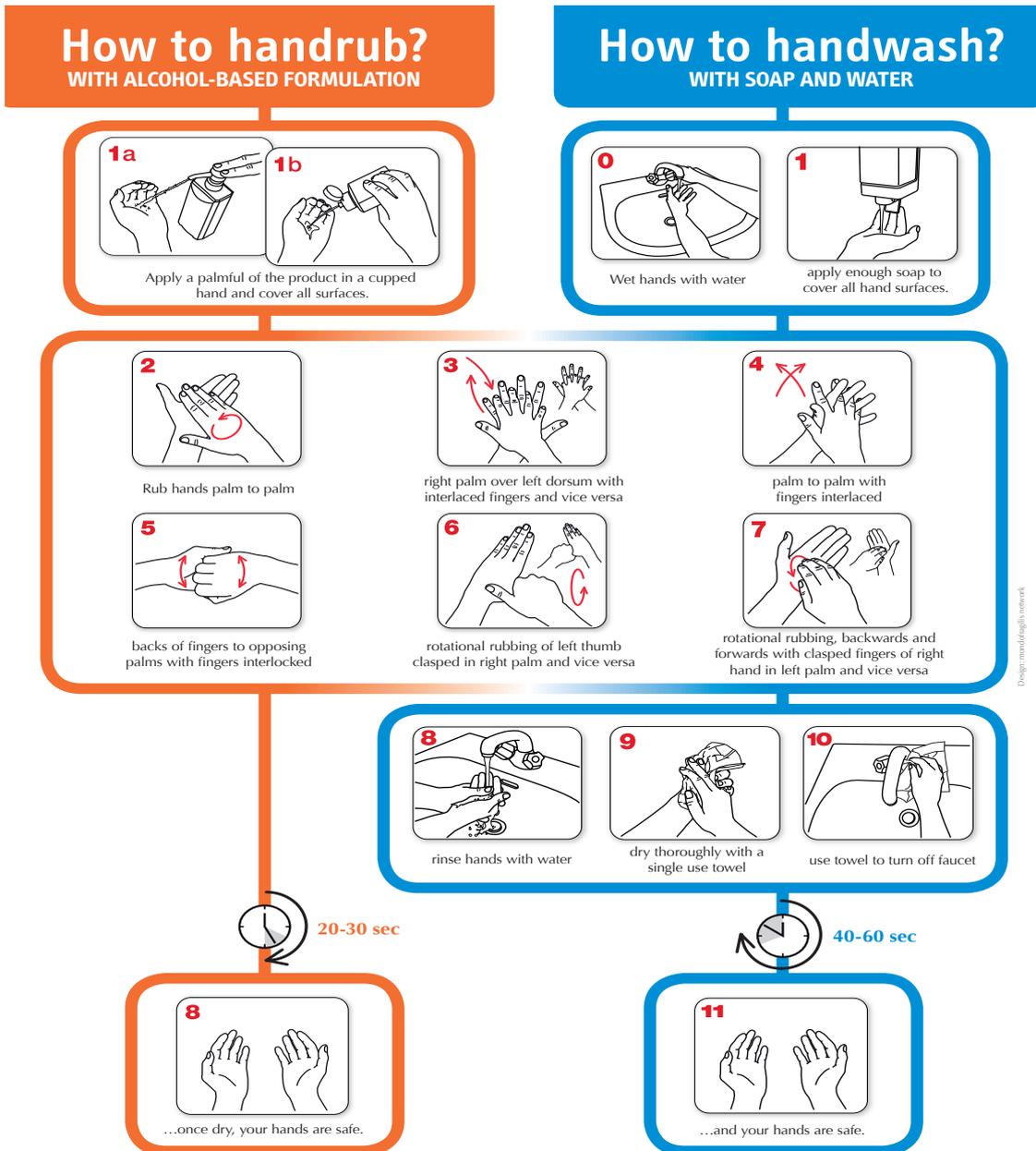
19. Peter Virginie G., Morandi Sophia C., Herzog Elio L., Zinkernagel Martin S., Zysset-Burri Denise C., Investigating the ocular surface microbiome: what can it tell us? *Clinical Ophthalmology*. 2023; 17: 259-271.
20. Seyed Hamid Safiabadi Tali, Jason J. LeBlanc, Zubi Sadiq, Oyejide Damilola Oyewunmi, Carolina Camargo, Bahareh Nikpour, Narges Armanfard, Selena M. Sagan, and Sana Jahanshahi-Anbui, Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clinical Microbiology Review*. 2021 Jul; 34(3): e00228-20.
21. Sharma Anshika, Farouk Isra Ahmad, Lal Kumar Sunil, COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Trasmision, Detection, Control and Prevention. *Viruses*. Feb 2021; 13(2):202.
22. Spenser Sacha KR, Francis Ian C., Corneo Minas T., Spontaneous touching of the face and eyes: risk of infections due to the potential increase in the microbiome. *The Ocular Surface*. 2021 Jun; 21: 64-65.
23. Szczotka-Flynn Loretta B., Pearlman Eric, Ghannoum Mahmoud, Microbial contamination of contact lenses, lens care solutions, and their accessories: a literature review. *Eye Contact Lens*. 2020; 36(2): 116-29.
24. Umakathan S., Sahu P., Ranade Anu V., Bukelo Maryann M., Sushil Rao Joseph, Abrahao-Machado Lucas Faria, Dahal Samarika, Kumar Hari, KV Dhananjaya, Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgrad Med. J*. 2020 Dec; 96(1142): 753-758.
25. Whipps J, Lewis K, Cooke R. Micoparassitismo e controllo delle malattie delle piante. In: Burge M, editore. Mushroom biological control system. Manchester University Press; 1988, pag. 161-187

26. Y.A. Malik, Properties of Coronavirus and SARS-Cov-2. *Malays J Pathol.*
2020 Apr; 42(1): 3-11.

8. Allegati

Allegato I

Durante la fase di sperimentazione, è stato adottato il protocollo istituito dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) al fine di standardizzare il più possibile la procedura di lavaggio delle mani.



WHO acknowledges the Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), in particular the members of the Infection Control Programme, for their active participation in developing this material.



October 2006, version 1.

Fig. 17 - Protocollo istituito dal 'World Health Organization'