



# Dalla disattivazione virale *in vitro* alla rilevanza clinica: uno spray orale contenente glicerolo e tripsina di merluzzo contro il raffreddore comune

Tanja Schütt, PhD, Matthias Löhn, PhD

La tripsina di merluzzo in combinazione con il glicerolo si è dimostrata in grado di disattivare i virus del raffreddore comune *in vitro*. Uno studio pilota e uno studio multicentrico comparativo hanno esaminato la riduzione della carica virale *in vivo* e il miglioramento della qualità della vita a seguito dell'uso di questi principi attivi sotto forma di uno spray per la gola da parte di soggetti con raffreddore comune. I risultati hanno evidenziato una riduzione della carica virale e della durata del raffreddore, come pure un miglioramento della qualità della vita.

Con l'avvento dell'autunno, si apre la stagione del raffreddore comune: naso chiuso o che cola, tosse secca o catarrale, talvolta accompagnati da febbre, mal di testa o dolori corporei. Tutti sintomi che i farmacisti si sentono riferire quotidianamente. In assenza di trattamenti che intervengano sulle cause, le raccomandazioni terapeutiche mirano al sollievo dei sintomi individuali. Tutti i sintomi indicano che

il sistema immunitario si è attivato con un chiaro obiettivo: combattere il virus del raffreddore comune. Di conseguenza, più si riduce la presenza del virus, più lievi saranno i sintomi. L'approccio terapeutico che meglio contribuisce a questo obiettivo consiste nel supportare il sistema immunitario nell'eliminazione del virus in quanto fonte del problema.

**Tabella:** La capacità dello spray orale di causare la disattivazione virale è indicata come riduzione media in  $\log_{10}$  e disattivazione percentuale del singolo ceppo virale [2, 3].

VIRUS	RIDUZIONE IN $\log_{10}$ (MEDIA)	DISATTIVAZIONE PERCENTUALE
Rhinovirus tipo 1A	1,08 $\log_{10}$	91,7 %
Rhinovirus tipo 42	1,14 $\log_{10}$	92,8 %
Virus dell'influenza umana A	1,51 $\log_{10}$	96,9 %
RSV	2,94 $\log_{10}$	99,9 %
Adenovirus tipo 2	0,45 $\log_{10}$	64,5 %
Coronavirus umano*	2,88 $\log_{10}$	99,9 %

\* I coronavirus umani comuni, incluse i tipi 229E, NL63, OC43 e HKU1, causano generalmente patologie delle vie respiratorie superiori di gravità da lieve a moderata, come il raffreddore comune. Queste informazioni si riferiscono ai coronavirus umani comuni, da non confondersi con il SARS-Cov2 che causa la Covid-19 [6].

## Disattivazione virale: un approccio interessante al trattamento del raffreddore comune

La tripsina di merluzzo è una serin proteasi presente in questo pesce d'acqua fredda e dotata di proprietà antinfiammatorie [1]. In combinazione con il glicerolo, questo enzima si è dimostrato in grado di disattivare vari virus del raffreddore comune in vitro (tabella) [2, 3]. Data l'ampia varietà di virus contro cui si è rivelato efficace, questo enzima è diventato un candidato interessante per il trattamento precoce del raffreddore comune, considerando che le infezioni delle vie respiratorie superiori negli esseri umani sono riconducibili a oltre 200 tipi virali sierologicamente diversi, i più comuni dei quali sono i Rhinovirus [4]. È per questo motivo che ogni anno gli adulti sperimentano 2-4 episodi di raffreddore comune e i bambini anche 6-8 [5].

## Da in vitro a in vivo: applicazione mediante spray orale 6 volte al giorno

Sebbene la replicazione dei Rhinovirus sia ottimale a 33 °C [7], questi virus sono stati rinvenuti nelle vie respiratorie inferiori [7]. Potrebbe trattarsi di un effetto secondario del rapido trasporto mucociliare e della pulizia del naso prima dell'inoculazione del virus, nonché dell'aumento della respirazione con la bocca dopo l'inoculazione del virus, a causa del naso chiuso.

In quanto porta d'ingresso delle vie respiratorie inferiori, l'orofaringe sembra essere una zona di convogliamento nella quale uno strato di tripsina di merluzzo e glicerolo in grado di intrappolare i virus potrebbe rivelarsi estremamente utile. Il "lavaggio" fisiologico è il passaggio che consente di definire la

frequenza di applicazione, in quanto l'emivita della tripsina di merluzzo alla temperatura corporea umana è piuttosto lunga, pari a circa 0,7 giorni [8].

**Rilevanza clinica nel raffreddore comune: riduzione della carica virale dei Rhinovirus nell'orofaringe superiore al 99%, accompagnata da una riduzione significativa della gravità dei sintomi, con conseguente dimezzamento della durata del raffreddore comune e aumento della qualità della vita dei pazienti con raffreddore comune.**

### Studio pilota condotto con successo in 46 adulti sani.

**Ai volontari è stato inoculato il Rhinovirus 16 ed è stato raggiunto un tasso d'infezione del 76%.** Il trattamento con lo spray orale 6 volte al giorno per 10 giorni ha prodotto una riduzione significativa della carica virale totale (mediana di  $7,4 \times 10^3$  copie/ml) nell'orofaringe rispetto a quanto osservato nel gruppo placebo ( $6,3 \times 10^{11}$  copie/ml;  $p = 0,023$ ), che corrisponde a una riduzione della carica virale di oltre il 99%. Inoltre, con l'uso dello spray orale, il numero di giorni per cui sono durati i sintomi del raffreddore si è ridotto significativamente da 6,5 a 3,0 giorni ( $p = 0,014$ ) [9].

### Studio confermativo prospettico, randomizzato, a gruppi paralleli condotto in 267 soggetti con raffreddori contratti naturalmente.

L'efficacia dello spray orale in termini di miglioramento della qualità della vita è stata valutata con il punteggio Jackson (un sistema che considera le valutazioni soggettive fornite dai singoli pazienti di 8 sintomi respiratori) e la componente relativa alla qualità della vita del Wisconsin Upper Respiratory Symptom Survey-21 (scala WURSS-21

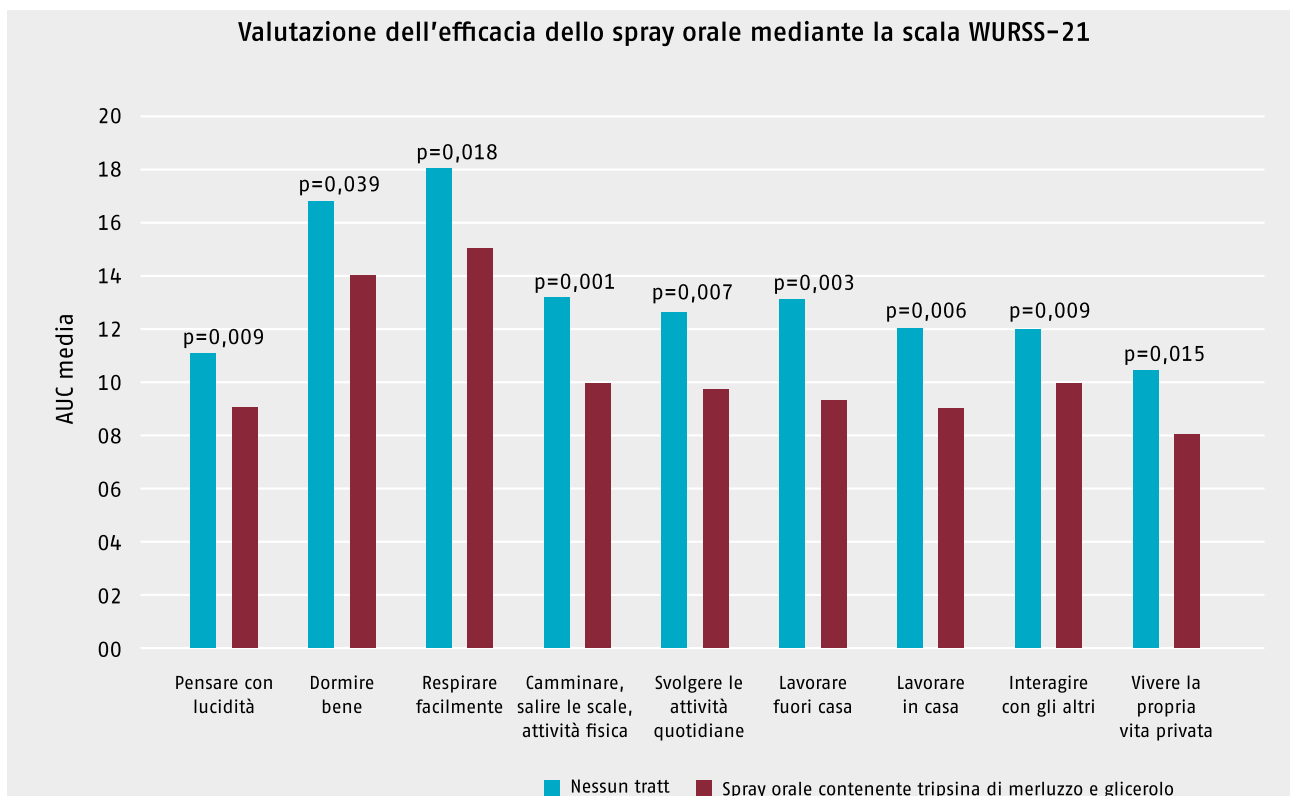


Figura: Valutazione dell'efficacia dello spray orale mediante la scala WURSS-21. La qualità della vita è stata registrata ed è qui mostrata come AUC media dei sottopunteggi delle singole voci nei giorni da 1 a 7. Più alto è il punteggio, più negativo è l'impatto sulla qualità della vita [10]

della qualità della vita). Entrambe le scale hanno evidenziato un miglioramento statisticamente significativo dei sintomi. I parametri per la valutazione della qualità della vita sono stati: pensare con lucidità, dormire bene, respirare facilmente, camminare, salire le scale, fare attività fisica, svolgere le attività della vita quotidiana, lavorare fuori casa e in casa, interagire con gli altri, vivere la propria vita privata. È interessante notare che c'è stata una diminuzione del bisogno di affiancare altri farmaci per il sollievo dai sintomi del raffreddore [10].

**Evidenze dal mondo reale: dai sondaggi è emersa una riduzione del numero di giorni di malattia in gruppi diversi quali atleti agonisti e di resistenza, personale addetto all'assistenza agli anziani e operante nelle scuole dell'infanzia.** Un comune raffreddore non è potenzialmente letale, ma talvolta sembra esserlo per via del suo fortissimo impatto sulla qualità della vita, che costringe ad assentarsi dal lavoro e impedisce di affrontare al meglio la giornata. Sondaggi diversi hanno evidenziato una costante riduzione del numero di giorni di malattia a seguito dell'applicazione dello spray orale nella fase iniziale del raffreddore. I gruppi presi in esame includevano atleti agonisti [11], atleti di resistenza [12, 13], personale operante nelle scuole dell'infanzia [14] e addetto all'assistenza agli anziani [15].

## Conclusioni

Diversi virus del raffreddore comune in vitro, il che la rende un'opzione promettente per il trattamento del raffreddore. Applicata in forma di spray orale in vivo, questa combinazione ha ridotto la carica virale dei Rhinovirus nell'orofaringe di oltre il 99%. Gli studi clinici hanno dimostrato una riduzione significativa della gravità dei sintomi del raffreddore comune, con dimezzamento della durata del raffreddore accompagnato da un aumento significativo della qualità della vita con rispetto a diversi parametri. Grazie alla praticità dell'applicazione, lo spray orale rappresenta un'opzione terapeutica semplice e igienica per il trattamento del raffreddore comune anche in caso di naso chiuso o che cola e può essere affiancato ad altri trattamenti sintomatici. Stando agli esiti positivi di vari sondaggi nel mondo reale, gruppi di pazienti diversi hanno percepito un evidente beneficio. È quindi inevitabile porsi una domanda: chi è esposto con estrema frequenza ai virus del raffreddore comune? Genitori di bambini piccoli, personale delle farmacie... l'elenco sembra essere infinito.

## Letteratura

1. Gudmundsdóttir A and Pálsdóttir HM. Atlantic cod trypsins: from basic research to practical applications. *Mar Biotechnol* (NY). 2005;7(2):77–88.
2. Stefansson et al, A medical device forming a protective barrier that deactivates four major common cold viruses. *Virology Research Reviews* 2017;1(5):1–3.
3. Stefansson B, Gudmundsdóttir Á, Clarsund M. ColdZyme forms a protective barrier in the throat that deactivates five major common cold viruses. Swedish Otolaryngology Congress, Apr 2018. <https://www.enzymatica.se/files/Main/18091/2752911/999769.pdf> (accessed 25.09.2020)
4. Eccles R. Understanding the symptoms of the common cold and influenza. *Lancet Infect Dis.* 2005;5(11):718–25.
5. Heikkinen T, Järvinen A. The common cold. *Lancet.* 2003;361(9351):51–9.
6. Common Human Coronaviruses. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases; <https://www.cdc.gov/coronavirus/general-information.html> (accessed 25.09.2020)
7. Greenberg SB. Update on Human Rhinovirus and Coronavirus Infections. *Semin Respir Crit Care Med.* 2016;37(4):555–71.
8. Stefansson B, Helgadóttir L, Olafsdóttir S, Gudmundsdóttir A, Bjarnason JB. Characterization of cold-adapted Atlantic cod (*Gadus morhua*) trypsin I--kinetic parameters, autolysis and thermal stability. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2010 Feb;155(2):186–94.
9. Clarsund, M., Fornbacke, M., Uller, L., Johnston, S. and Emanuelsson, C. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Clinical Study on ColdZyme® Mouth Spray against Rhinovirus-Induced Common Cold. *Open Journal of Respiratory Diseases* 2017;7:125–35.
10. Lindberg F. Multi-symptom Relief and Improvement of Quality of Life - A Comparative Multicenter Trial on ColdZyme® Mouth Spray in Common Cold. Presentation at the Swedish ENT days 2009 <https://mb.cision.com/Main/18091/2752910/999768.pdf> and <https://www.enzymatica.se/files/Main/PDF/LindbergetalMultisymptomReliefandImprovementofQoLAComparativeMulticenterTrialonColdZymeinCommonColdENTDays912AprilMLOSE.pdf> (accessed 09/2020)
11. Blom, U. and Nelson, I. User Experience of ColdZyme Mouth Spray against Common Cold in Competitive Athletes. *Open Journal of Respiratory Diseases* 2018;8:13–20.
12. Davison G. Pilot study: Does ColdZyme® mouth spray reduce upper respiratory tract infection incidence or duration in endurance athletes? *J Otol Rhinol* 2018, Vol. 7.
13. Davison G, et al. ColdZyme® Mouth Spray reduces duration of upper respiratory tract infection symptoms in endurance athletes under free living conditions. *European Journal of Sport Science*, 2020.
14. Clarsund M. Evaluation of ColdZyme Mouth Spray against Common Cold in Preschool Staff. *Open Journal of Respiratory Diseases* 2017;7:136–40.
15. Clarsund M, Persson C. Evaluation of ColdZyme Mouth Spray against Common Cold in Elderly Care Personnel. *Open Journal of Respiratory Diseases* 2017;7:12–7. doi: 10.4236/ojrd.2017.71002.

Conflitto di interessi: T. Schütt e M. Löhn sono dipendenti di Sanofi.

Dichiarazioni: Medical writing e pubblicazione finanziati da Sanofi Aventis Deutschland GmbH.

## Informazioni sul manoscritto

Inoltrato il: 20.11.2020

Accettato il: 03.01.2021

Publicato il: 16.08.2021