

Commissione per l'Ambiente e le grandi catastrofi naturali

Accademia Nazionale dei Lincei

Problemi aperti nella Bio-fluodinamica del contagio da COVID19

(4 Giugno 2020)



*“Che fossero generati da materia in putrefazione o emanati da individui infetti (persone, animali, oggetti), gli atomi velenosi infettavano l’aria salubre e la rendevano «miasmatica», vale a dire velenosa. Era proprio l’aria «corrotta» a costituire, secondo i dottori del Rinascimento, la condizione di base indispensabile perché scoppi un’epidemia di peste”
(Carlo Maria Cipolla, *Il pestifero e contagioso morbo*, ed. Il Mulino, 2012).*

Rapporto a cura di

G. Seminara (Accademia Nazionale dei Lincei)

B. Carli (Accademia Nazionale dei Lincei),

G. Forni (Accademia Nazionale dei Lincei),

S. Fuzzi (ISAC-CNR),

A. Mazzino (Università di Genova),

A. Rinaldo (Accademia Nazionale dei Lincei),

Indice

Sommario

1. Introduzione

2. Elementi sulla patologia del contagio.

2.1 Il virus.

2.2 Barriera fisico-biologica.

2.3 La penetrazione all'interno della cellula umana.

2.4 La malattia.

3. I possibili meccanismi di esposizione al contagio.

3.1 Contatto e trasmissione aerea.

3.2 Gocce grandi e gocce piccole.

3.3 Contagio 'vicino', contagio 'lontano'?

4. Problemi fluidodinamici nella trasmissione del contagio.

4.1 Caratteristiche delle particelle emesse nelle funzioni respiratorie

4.2 Fluodinamica del processo di emissione: Osservazioni sperimentali

4.3 Una breve digressione: dove e come si formano le goccioline?

4.4 Interpretazione e modellazione della fluidodinamica dell'emissione: problemi aperti.

4.5 Ruolo della ventilazione naturale e forzata

5. Implicazioni per la valutazione di provvedimenti di protezione dal contagio.

5.1 Provvedimenti di protezione facciale

5.2 Distanziamento sociale e fluidodinamica

6. Implicazioni per lo sviluppo di modelli epidemiologici

7. Conclusioni

Appendice *Breve rassegna dei risultati delle misure di distribuzioni granulometriche delle goccioline espulse in diverse tipologie di emissione respiratoria*

Ringraziamenti

Riferimenti bibliografici

SOMMARIO

Questo rapporto offre un quadro dello stato delle conoscenze sui meccanismi bio-fluodinamici che intervengono nella trasmissione del contagio da SARS-CoV-2. Oltre che per contatto fisico fra infetto e suscettibile, il contagio può infatti avvenire per via aerea, mediato dalle particelle virali che una persona infetta libera quando tossisce, starnutisce, parla o semplicemente respira.

Modellare in modo appropriato la meccanica del complesso processo attraverso cui il flusso bifase emesso dall'infetto si disperde nell'ambiente consentirebbe di porre su basi scientifiche le norme sul distanziamento sociale e sull'uso di protezioni facciali che ad oggi sono adottate su basi essenzialmente empiriche. Consentirebbe inoltre di valutare gli effetti che la ventilazione naturale o forzata degli ambienti esercita da una parte sulla riduzione del contagio attraverso il meccanismo della diluizione della carica infettiva, dall'altra sulla sua propagazione lontano dalla sorgente infetta.

L'esame dello stato dell'arte rivela che il raggiungimento di questo obiettivo richiede la soluzione di una serie di problemi ancora aperti, che sono discussi nel rapporto.

La prima classe di problemi riguarda la precisa definizione delle caratteristiche del sistema oggetto di interesse: la 'nuvola' emessa attraverso le varie tipologie degli eventi respiratori. La modellazione dei meccanismi che la generano attraverso la destabilizzazione dello strato di muco che ricopre le vie respiratorie, è ancora in uno stadio molto preliminare. Con qualche sorpresa, emerge che anche i rilievi sperimentali non consentono a oggi di identificare una distribuzione di probabilità delle dimensioni delle particelle liquide associabile ai diversi eventi respiratori. Ad onta di uno sforzo di ricerca che si è dipanato nel corso di quasi un secolo con l'uso di tecniche sperimentali sempre più raffinate, studi diversi forniscono risultati che possono differire di ordini di grandezza. Recenti sviluppi, che si avvalgono di tecniche di cinematografia ultrarapida, suggeriscono che, almeno nel caso di eventi respiratori violenti (starnuti), il processo di formazione della dispersione di goccioline continua nella prima fase dell'espulsione attraverso la frammentazione di strutture liquide filamentose, la cui modellazione pone un complesso problema di fluidodinamica computazionale.

La seconda classe di problemi riguarda la comprensione del processo di trasporto attraverso cui la nuvola modifica la sua composizione allontanandosi dalla sorgente. Queste modifiche sono cruciali ai fini della comprensione dei possibili meccanismi di trasmissione del contagio. Le gocce di dimensioni maggiori tendono a sedimentare nelle immediate vicinanze dell'infetto. Le altre si allontanano dalla sorgente trasportate dal flusso, ed evaporano con una rapidità dipendente dalle condizioni di temperatura e umidità relativa della nuvola. Inizialmente più calda e umida dell'ambiente esterno, quest'ultima va mescolandosi con l'aria dell'ambiente con rapidità dettata dal carattere turbolento del moto. È quindi l'evoluzione dei campi di velocità, temperatura e umidità relativa e delle loro fluttuazioni turbolente a determinare le trasformazioni della distribuzione granulometrica delle gocce. Nel campo lontano, l'evaporazione rimpicciolisce le goccioline sopravvissute fino a ridurle ai loro nuclei secchi.

Questo apre alla terza classe di problemi, che origina da una semplice domanda: la goccia infetta che subisce evaporazione, o si riduce addirittura al suo nucleo secco, si mantiene infettiva? Si tratta di una questione strettamente legata al problema della sopravvivenza dei virus in diverse condizioni ambientali. Anche in questo campo non sembra che la scienza abbia raggiunto certezze. Il Rapporto riporta le poche evidenze recenti sulla sopravvivenza del SARS-CoV-2. Data la rilevanza del problema, appare sorprendente che anche sui meccanismi fondamentali che determinano la

capacità di sopravvivenza dei virus (ruolo del loro eventuale rivestimento, dei sali disciolti, delle variazioni di pH, etc.) non sembra esistano prove conclusive.

Il Rapporto dedica poi qualche attenzione alle implicazioni fluidinamiche dei provvedimenti di protezione dal contagio. L'esame dello stato dell'arte e, in particolare, l'analisi di alcuni recenti visualizzazioni del flusso respiratorio di soggetti che indossavano mascherine in presenza di altri soggetti, evidenzia l'importanza dell'uso di questo strumento di protezione e, ad un tempo, i suoi limiti. Emerge inoltre come la misura del distanziamento sociale adottata dall'OMS non si fondi su presupposti scientifici, ma debba intendersi come misura di carattere empirico. La sua efficacia per la riduzione del rischio è rilevante se il distanziamento sociale è accompagnato dall'uso di mascherine, in assenza delle quali la distanza di 1 metro prevista dall'OMS appare insufficiente.

Il rapporto si conclude esaminando le implicazioni che una migliore comprensione della biofluidinamica del contagio avrebbe sull'ulteriore sviluppo dei modelli epidemiologici e sottolineando l'importanza di un potenziamento della ricerca interdisciplinare.

1. Introduzione.

In un rapporto della NAS (US National Academy of Sciences) sul riuso delle mascherine per la protezione da contagi da parte di patogeni delle vie respiratorie, si legge:

The public is likely to forgive lack of knowledge but will not be willing to trust public health officials in the next instance if they have in any way been misinformed or misled (NAS, 2006, p. 67)

Questa affermazione pone un importante problema, quello dell'informazione, e quindi quello del diritto alla conoscenza da parte dei cittadini. È con questa consapevolezza che la Commissione per l'Ambiente e le Grandi Catastrofi Naturali dell'Accademia Nazionale dei Lincei ha deciso di produrre un rapporto su un aspetto della pandemia attuale che merita attenzione, non solo da parte delle Istituzioni preposte alla sua gestione ma anche da parte delle Istituzioni di ricerca.

La questione che ci proponiamo di esaminare riguarda lo stato delle conoscenze sui meccanismi che intervengono nella trasmissione del contagio da SARS-CoV-2,

con particolare riferimento all'importante contributo che allo sviluppo delle conoscenze può venire **dall'interazione fra immunologi, virologi ed esperti di bio-fluodinamica.**

È tuttavia necessario fare alcune precisazioni.

La rassegna che viene qui proposta **non ha (né potrebbe ragionevolmente avere) la pretesa di essere esaustiva.** Non solo perché si tratta di una questione certamente non nuova (se non per il particolare agente patogeno qui di interesse): su di essa si sono esercitati da decenni i ricercatori di discipline mediche, e non solo. Ma anche perché l'esplosione della produzione di ricerca associata alla SARS-CoV-2 ha avuto caratteristiche inimmaginabili, come emerge dalla Figura 1.

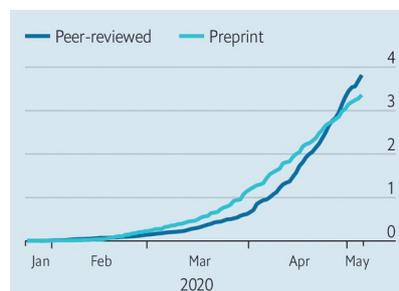


Fig. 1 L'esplosione della ricerca relativa ai vari aspetti della pandemia: numero cumulato di lavori di ricerca (in migliaia di unità) pubblicati da gennaio a maggio 2020 (*The Economist*, 7 Maggio, 2020).

<https://www.economist.com/science-and-technology/2020/05/07/scientific-research-on-the-coronavirus-is-being-released-in-a-torrent>

Ci accontenteremo di mostrare come un esame anche parziale della letteratura evidenzi importanti questioni irrisolte, e suggerisca percorsi di ricerca da perseguire.

La seconda importante precisazione riguarda le implicazioni pratiche delle conclusioni qui raggiunte, che riguardano naturalmente i provvedimenti relativi alla protezione dal contagio. Su tali implicazioni diremo al punto 5 del rapporto e nelle conclusioni. Con la consapevolezza, tuttavia, che **alla Scienza spetta il compito di fornire il quadro delle conoscenze, alla Politica quello di valutare i rischi e operare le scelte possibili**, nel rispetto di una indispensabile distinzione di ruoli e di trasparenza nella tempestiva partecipazione di scienza e politica.

2. Elementi sulla patologia del contagio.

Malgrado questo rapporto focalizzi l'attenzione sulla fluidinamica del contagio, appare necessario premettere alcune nozioni relative alla sua patologia.

2.1 Il virus.

Il virus SARS-CoV-2 (Figura 2) è una particella sferica di 0.125 (0.05- 0.2) μm (micron) di diametro. L'involucro esterno (il pericapside) è costituito da quattro glicoproteine strutturali: *Spike*, *Envelope*, *Membrane* e *Nucleocapsid* e da un rivestimento lipidico. La grande proteina Spike (S), che protende all'esterno, è formata da due regioni (*domains*), S1 e S2. La regione S1, la più esterna, contiene una zona che si lega alle cellule umane, zona conosciuta come RBD (*Receptor Binding Domain*). Sulla superficie del SARS-CoV-2 tre glicoproteine S si aggregano formando un omotrimerico. Numerosi omotrimeri che protrudono all'esterno del pericapside danno origine ad una specie di corona da cui il nome di Coronavirus (Walls et al., 2020). All'interno del pericapside si trova un unico filamento di RNA (positive sense) di ~30 kb che contiene 30 000 basi, un genoma molto grande per un virus a RNA (Chan et al. 2020).

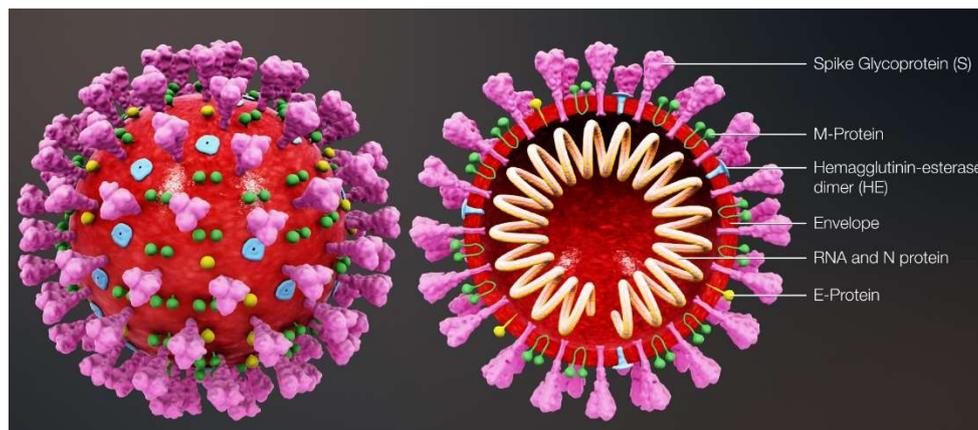


Fig.2 Illustrazione schematica di un virione del coronavirus SARS-CoV-2
(credit: <https://www.scientificanimations.com/wiki-images/>)

2.2 Barriera fisico-biologica.

Comunemente la **carica infettiva** (*infectious dose*) del SARS-CoV-2, proprietà che esercita un'influenza importante sul contagio, non è conosciuta ma si suppone che sia bassa, **tra le 10 e 1000 particelle virali che arrivano per via respiratoria** (Cyranoski, 2020).

Il **muco**, un gel vischioso che ricopre le cellule della mucosa dell'apparato respiratorio, imbriglia e neutralizza le particelle virali e così ne impedisce il contatto con la superficie delle cellule dell'ospite. Il muco è una complessa miscela di glicoproteine continuamente prodotta dalle cellule caliciformi delle mucose e da particolari ghiandole. Il muco contiene anche sali, lattoferrina, enzimi e anticorpi (IgA e IgM secretorie)(Birchenough et al., 2015). La produzione del muco è regolata principalmente da due linfocine (IL-13 e IL-22) prodotte da linfociti sentinella associati alle mucose. L'IL-13 è prodotta principalmente dalla Innate Lymphoid Cells (ILC), l'IL-22 dai linfociti T-helper₁₇. L'iperproduzione di muco da origine al **catarro** (Toki et al., 2020). Il muco viene continuamente spinto dai battiti delle ciglia delle cellule ciliate delle mucose (Figura 3), viene deglutito e distrutto

nello stomaco. Il movimento del muco è fondamentale per la sua azione protettiva. In condizioni normali la frequenza del battito delle ciglia (*ciliary beat frequency*) è intorno ai 700 battiti per minuto. L'intensità dei battiti viene regolata negativamente dall'IL-13 e viene abbassata da inquinanti ambientali presenti nell'aria respirata e dall'umidità dell'aria e dalla bassa temperatura (Laoukili, 2001). La bassa umidità relativa e la bassa temperatura dell'aria respirata alterano sia la produzione sia la composizione del muco. La bassa temperatura dell'aria riduce anche la funzionalità delle cellule del sistema immunitario associate alle mucose respiratorie (Moriyama et al. 2020). Come le condizioni ambientali influenzino la protezione a barriera verso il SARS-CoV-2 non è ancora stato riportato, anche se è ben conosciuta l'influenza che l'umidità relativa, la temperatura e l'inquinamento genericamente inteso esercitano sulla stagionalità delle infezioni dei coronavirus che provocano il raffreddore invernale.

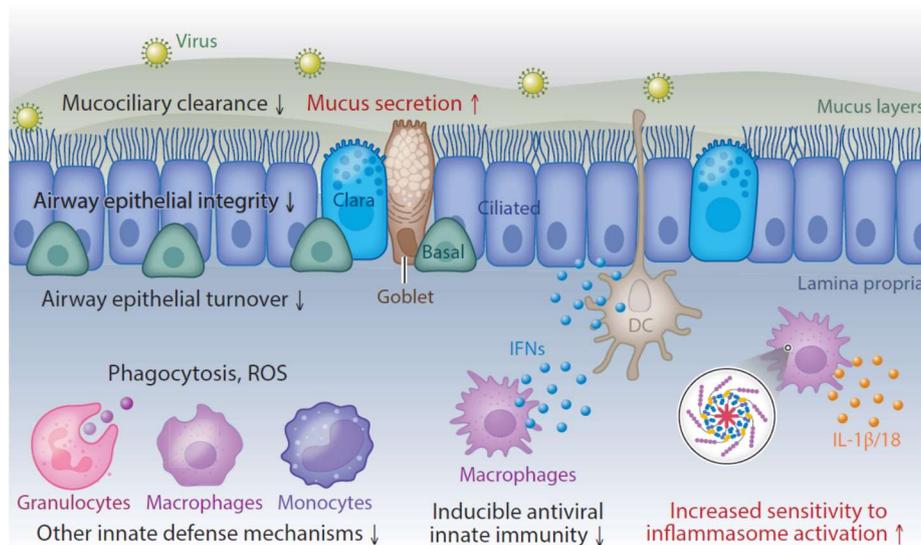


Fig. 3 Schema illustrativo dell'epitelio delle vie respiratorie con l'indicazione di meccanismi, discussi da Moriyama et al. (2020), che proteggono dalle infezioni respiratorie virali (modificato da Moriyama et al, 2020)

2.3 La penetrazione all'interno della cellula umana.

Se le particelle virali riescono superare la barriera del muco e raggiungono la superficie delle cellule della mucosa respiratoria, la zona RDB, presente nella regione S1 della molecola Spike che protrude all'esterno, lega con alta affinità l'elica N-terminale di ACE2 (*Angiotensin-Converting Enzyme 2*), un enzima ad attività esopeptidasica che catalizza la conversione dell'angiotensina da vasocostrittore a vasodilatatore, enzima normalmente presente sulla membrana di molte cellule umane (Shang et al, 2020). Una volta avvenuto l'attracco del virus alla cellula, altri enzimi proteolitici presenti sulla membrana della cellula quali la TMPRSS2 (*Transmembrane Protease Serine 2*) e la Furina rimuovono la parte esterna delle proteine Spike, separando la regione S1 dalla regione S2. In seguito a questo taglio, la regione S2, presente sulla superficie esterna del virus, espone particolari sequenze di aminoacidi (*fusion peptides*) che facilitano la fusione tra il pericapside virale e la membrana della cellula umana (Cyranoski, 2020, Shang et al. 2020).

Grazie a questa fusione, l'RNA del virus può penetrare all'interno della cellula dove viene direttamente traslato in proteine dai ribosomi della cellula umana. Successivamente la cellula

infettata muore liberando milioni di nuove particelle virali che iniziano ad invadere altre cellule e causano la malattia COVID-19.

2.4 La malattia.

Gli aspetti clinici della malattia COVID-19 derivano dalla competizione tra l'azione invasiva del virus e la reazione immunitaria. La carica virale infettante, la sua decimazione da parte della reazione della barriera, la reazione immediata dell'immunità innata e quella, più tardiva, dell'immunità adattativa determinano se la malattia sarà asintomatica, lieve o grave (Matricardi *et al.*, 2020). Gli aspetti di questa competizione sono molteplici, spesso le reazioni portano a risultati ambivalenti, nel senso che reazioni intese ad inibire l'espansione virale possono portare ad eventi che la favoriscono o che peggiorano il decorso della malattia (Matricardi *et al.*, 2020). La diffusione del virus dall'epitelio del naso e della trachea ai polmoni ha luogo col propagarsi dell'infezione virale, ostacolata, con maggiore o minore efficacia delle reazioni immunitarie. L'arrivo diretto del SARS-CoV-2 agli alveoli polmonari potrebbe anche essere favorito da una respirazione particolarmente profonda, come quella associata ad esercizi atletici intensi (Matricardi *et al.*, 2020). Arrivato al polmone, il virus infetta ed uccide le cellule degli alveoli. La violenta reazione immunitaria che si scatena contro l'infezione virale contribuisce molto significativamente all'insorgenza di una forma grave di insufficienza respiratoria, conosciuta come ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*). L'ARDS insieme ad una coagulazione intravascolare disseminata costituiscono le complicazioni più gravi della COVID-19.

3. I possibili meccanismi di esposizione al contagio.

È osservazione condivisa che il SARS-CoV-2 si sia rivelato altamente contagioso. La ragione di ciò non sembra a oggi del tutto chiara. Si tratta di una importante questione che non può essere risolta solo nell'ambito di studi epidemiologici, ma richiede anzitutto una chiara comprensione dei possibili meccanismi di esposizione al contagio.

3.1 Contatto e trasmissione aerea.

Il contagio da parte del virus SARS-CoV-2 avviene principalmente **per via aerea**, (che non richiede dunque contatto fisico fra infetto e suscettibile), tramite le particelle virali che una persona infetta libera quando tossisce, starnutisce o parla. La quantità di virus liberato aumenta man mano che l'infezione progredisce. La quantità di virus diffusa da una persona infetta, ma asintomatica, è notevolmente inferiore rispetto a quella diffusa da un paziente affetto da COVID-19 conclamata (Ferretti *et al.*, 2020). Tuttavia, l'importanza che riveste la trasmissione del SARS-CoV-2 da parte di persone infette ma asintomatiche è difficile da valutare anche se numerosi dati provenienti dalla Cina (Day, 2020), dagli studi condotti in Italia a Vo' Euganeo (Lavezzo *et al.*, 2020) e in Islanda (van Doremalen *et al.*, 2020) mettono in evidenza che in un'ampia percentuale della popolazione l'infezione rimane senza sintomi. È quindi probabile che la maggior fonte della diffusione del contagio siano le persone infette ma asintomatiche o pre-sintomatiche.

I virus diffusi dalla persona infetta si possono tuttavia depositare su varie superfici. È quindi possibile una trasmissione del contagio anche per **contatto** fra un 'suscettibile' ed un 'infetto', diretto (ad es. due mani che si stringono di cui una è infetta) o indiretto, attraverso fomite (ad es. un fazzolettino contaminato). Al contatto segue l'infezione se il suscettibile si tocca la bocca, il naso o gli occhi dopo aver captato il virus dalla superficie infetta (Wang *et al.*, 2020).

Due aspetti svolgono un ruolo fondamentale per la valutazione dell'importanza dei diversi meccanismi di contagio: la **conoscenza della carica virale di cui sono potenzialmente portatrici le goccioline** espulse attraverso le emissioni respiratorie, e la conoscenza della **persistenza della loro infettività nel tempo**, in dipendenza dalle condizioni ambientali. Purtroppo, il quadro delle attuali conoscenze su questi due aspetti non consente affermazioni conclusive.

Analisi della **carica virale** sono stati eseguiti da Wölfel *et al.* (2020) su tamponi nasali, orofaringei e sputo di pazienti affetti da SARS-CoV-2. La carica virale rilevata dipendeva dal tempo trascorso a partire dall'apparizione dei sintomi e si aggravava, nel caso delle secrezioni salivari intorno a valori medi pari a 7×10^6 virioni per millilitro, con massimi che superavano 2×10^9 virioni per millilitro.

Quanto alla **persistenza dell'infettività nel tempo** risultati relativi a SARS-CoV-2 sono stati riportati da van Doremalen *et al.* (2020) e Chin *et al.* (2020). I primi hanno valutato la stabilità in aerosol mantenuti alla temperatura di 21-23 °C e umidità relativa del 40%. I risultati mostrano la persistenza del virus per l'intera durata dell'esperimento (3 h), se pur con una diminuzione della carica virale, di un fattore pari a circa 6, un comportamento simile a quello rilevato per il SARS-CoV. Chin *et al.* (2020) hanno misurato la stabilità di SARS-CoV-2 a diverse temperature in laboratorio, testandone l'infettività dopo un'incubazione di 14 giorni. Il virus si è rivelato molto stabile a 4 °C (riduzione della carica infettiva di un fattore 5 circa il 14-esimo giorno). Aumentando la temperatura a 70 °C, il virus diventava inattivo in 5 minuti.

Studi precedenti sono noti per quanto riguarda il coronavirus MERS-CoV che nel 2012 ha causato l'epidemia di MERS (Middle Orient Respiratory Syndrome) (Pyankov *et al.*, 2017) e sul coronavirus HCoV 229E (Geller *et al.*, 2012). Nel primo caso, il 63% del virus nebulizzato in particelle tra 1 e 2 μm rimanevano infettive dopo un'ora a 25 °C in presenza del 79% di umidità relativa. L'infettività del virus si riduceva a meno del 5% se le particelle venivano tenute per un'ora in un ambiente più caldo e più secco (38 °C e 24% di umidità relativa). Il secondo studio riporta dati sulla sopravvivenza del coronavirus HCoV 229E aerosolizzato e mantenuto per un periodo variabile tra i 15 minuti ed i 6 giorni a 20 °C in presenza di diversi tassi di umidità relativa. Dopo 15 minuti in presenza dell'80% di umidità relativa rimaneva infettante solo il 55% delle particelle virali. Al contrario, in presenza del 30% e del 50% di umidità relativa rimaneva infettivo il 90% e l'87% delle particelle virali. Dopo sei giorni, il 20% delle particelle virali mantenute in presenza del 30% di umidità era ancora infettivo, mentre non si riscontrava attività infettiva nelle particelle mantenute a 80% o 50% di umidità relativa. L'influenza reciproca esercitata dall'umidità relativa e dalla temperatura risulta ben evidente nello studio di Ijaz *et al.*, (1985) che mostra che in un ambiente a 20 °C l'infettività del coronavirus HCoV 229E rimane molto elevata in presenza del 50% di umidità relativa, mentre si abbassa notevolmente sia in presenza di un'umidità relativa del 30% che dell'80%. Abbassando la temperatura a 6 °C, il virus rimane altamente infettivo sia in presenza di un'umidità relativa del 50% sia del 30% mentre perde la sua infettività in presenza dell'80% di umidità relativa.

Questi risultati mettono in evidenza **una risposta non uniforme e in parte contraddittoria**: MERS-CoV sembra soffrire un clima caldo e secco, mentre SARS-CoV-2 e HCoV 229E sono stabili in climi poco umidi. Tuttavia, concordemente questi dati mostrano che i cambiamenti dell'umidità relativa influenzano in modo **drastico** la capacità infettiva dei coronavirus. Quest'influenza è evidente sia a temperature sui 20-25 °C, che a temperature più basse. Ulteriori dati appaiono necessari al fine di stabilire in modo conclusivo la sopravvivenza di SARS-CoV-2 in differenti condizioni ambientali e prevedere la stagionalità dell'infezione (si veda la recente rassegna di Moriyama *et al*, 2020 sulla stagionalità dei coronavirus). Resta, tuttavia, l'osservazione generale che altri virus, come quello della poliomielite, ceppo Sabin, appaiono molto più fragili del coronavirus.

Per quanto riguarda la sopravvivenza di virus depositati su superfici, van Doremalen *et al.*, (2020) hanno analizzato la stabilità di SARS-CoV-2 su superfici di natura diversa, osservando che esso rivela **caratteristiche di stabilità maggiori su plastica e acciaio inossidabile piuttosto che su rame e cartone**. Su plastica (acciaio) sopravviveva per 72 (48) h, con riduzione della carica virale di un fattore maggiore di mille. SARS-CoV presentava comportamento analogo. Su rame (cartone) la carica batterica era scomparsa dopo 4 h (24 h). Nel parallelo studio di Chin *et al.* (2020) una goccia da 5 μ L di cultura di virus veniva depositata su una superficie e lasciata a temperatura ambiente (22 °C) con umidità relativa intorno al 65%. La carica infettiva scompariva dopo 3 h, 2 g, 4 g, 7 g, rispettivamente nel caso di carta, legno-tessuti, vetro e banconote, acciaio inossidabile e plastica. Inoltre, un livello misurabile di virus infettivo (intorno allo 0,1 % della dose iniziale) era ancora presente sulla superficie esterna di una mascherina chirurgica dopo ben 7 giorni.

Una rassegna dei risultati noti in letteratura sulla sopravvivenza di coronavirus di varia natura è riportata in Kampf *et al.* (2020) e riassunta schematicamente in Figura 4 (Fathizadeh *et al.*, 2020). Un confronto con i risultati ottenuti per il SARS-CoV-2 suggerisce la forte dipendenza della sopravvivenza del virus dalla sua specifica tipologia, oltreché dalle condizioni ambientali.

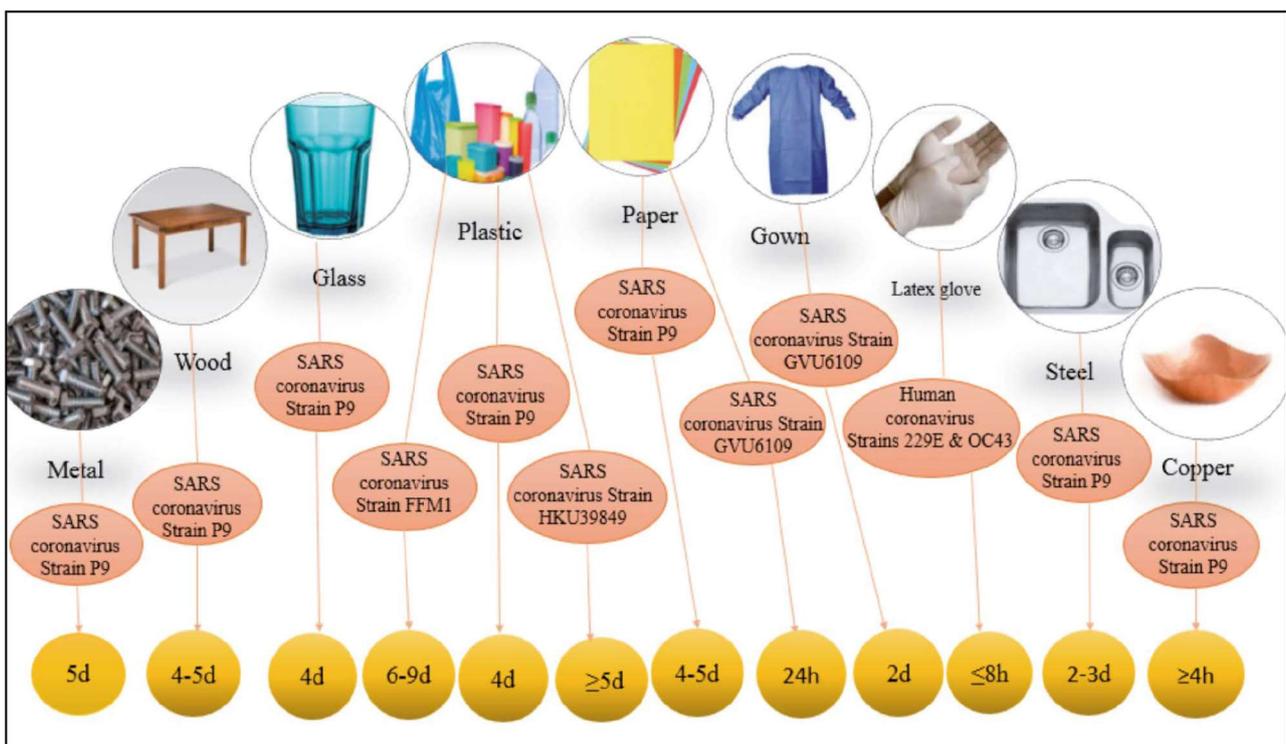


Fig. 4 Schema che riassume i risultati di una rassegna della letteratura sulla persistenza del virus su superfici inanimate (riprodotto da Fathizadeh *et al.*, 2020)

3.2 Gocce grandi e gocce piccole.

Nella letteratura epidemiologica (e.g. Asadi *et al.*, 2019) per la trasmissione aerea vengono distinti due meccanismi:

- **Contagio vicino** associato a **gocce grandi**, che interessano la regione immediatamente prossima all'infetto
- **Contagio lontano** associato a **gocce piccole** che possono restare in sospensione nell'aria per periodi molto lunghi e, quindi, possono trasmettere il contagio a 'grande' distanza dall'infetto (quanto grande si vedrà nel prosieguo di questo rapporto). Inoltre, particelle inalate di queste dimensioni sono in grado di raggiungere direttamente la parte profonda dell'apparato respiratorio. E, invero, la loro presenza è stata chiaramente accertata anche nel caso della SARS-CoV-2 (si vedano i rilievi di Zhu *et al.* (2020) sul fluido di lavaggio bronco-alveolare di infetti a Wuhan e Pechino).

Potrà meravigliare apprendere che la classificazione dicotomica della trasmissione aerea: gocce 'grandi'- gocce 'piccole', cui è associata l'implicazione di contagio 'vicino'- contagio 'lontano', risale a un importante e citatissimo lavoro relativo alla trasmissione della tubercolosi pubblicato quasi un secolo fa (Wells, 1934). La classificazione si fondava sul seguente criterio:

- Le gocce 'grandi' depositano in modo sufficientemente rapido da non subire il fenomeno di evaporazione totale, e trasmettono quindi il contagio solo nell'area immediatamente prossima all'infetto;
- Le gocce 'piccole', transitando dall'ambiente caldo e umido dell'apparato respiratorio all'ambiente esterno, più freddo e meno umido, evaporano rapidamente e si trasformano in particelle residue secche, i 'nuclei delle gocce'.

Appaiono quindi sulla scena due importanti attori del processo: la **sedimentazione** delle particelle e la loro **evaporazione**.

La scala temporale del primo fenomeno è facilmente stimabile facendo riferimento al caso più semplice, quello di una sfera rigida 'piccola' che sedimenta in un fluido fermo, ignorando quindi l'eventuale riduzione di diametro indotta dal processo di evaporazione. È immediato¹ verificare che, nell'ambito dell'approssimazione per 'bassi numeri di Reynolds', **gocce di 100 μm sedimentano da un'altezza di 2 m in un tempo dell'ordine di 6.7 s**. Tale tempo cresce molto rapidamente al decrescere del diametro della particella.

Valutare la scala temporale del processo di evaporazione non è altrettanto immediato, trattandosi di un processo, come vedremo, più complesso. Fu Wells (1934) il primo a tentarne una stima nel contesto epidemiologico, anche se non è chiara (Xie *et al.*, 2007) la procedura da lui utilizzata per ricavare il risultato espresso nel grafico di Figura 5.

¹ È sufficiente utilizzare la formula di Stokes, che fornisce la velocità di sedimentazione w_s in funzione del diametro d della particella e dalla viscosità cinematica dell'aria ν_a (pari a $1.5 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2/\text{s}$ a 20 °C) nella forma $w_s = g d^2 s / 18 \nu_a$, avendo indicato con g l'accelerazione di gravità e con s la densità relativa della goccia rispetto all'aria ($s=816$ a temperatura ambiente). È immediato quindi verificare che gocce di diametro pari a 100 μm sedimentano con velocità pari a 0,3 m/s circa, corrispondente ad un numero di Reynolds pari a 2, per il quale l'approssimazione di Stokes è un po' spinta, ancorché sufficiente per i nostri scopi illustrativi.

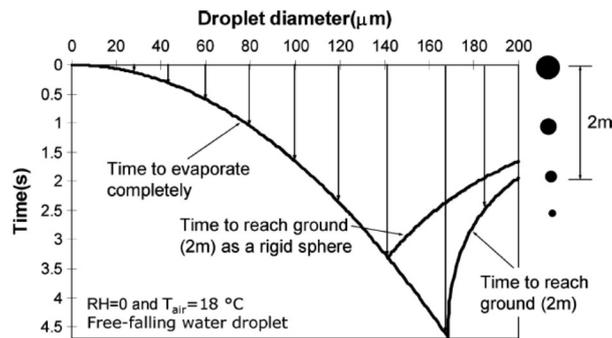


Fig. 5 Il grafico della sedimentazione-evaporazione delle gocce di Wells (1934) fornisce una stima delle scale temporali dei due processi in funzione del diametro della goccia.

Da esso Wells (1934) dedusse che, in condizioni ordinarie, gocce di dimensioni inferiori a $100 \mu\text{m}$ evaporano completamente prima di depositare, sicché il contagio 'vicino' sarebbe associato a gocce di dimensioni superiori a $100 \mu\text{m}$. Il suo studio mostrò anche il meccanismo attraverso cui le gocce si trasformano in 'nuclei' secchi.

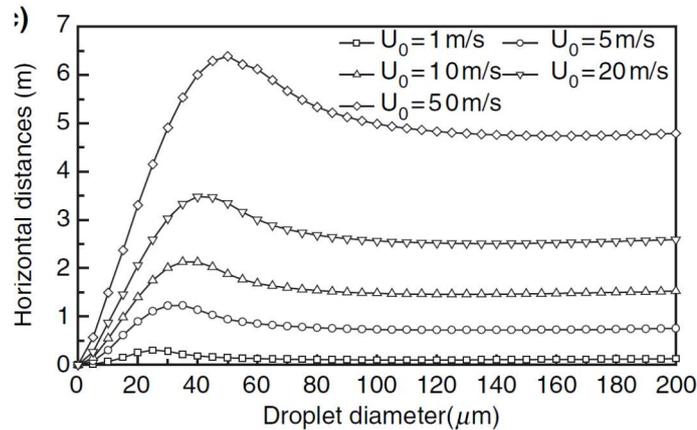
È sorprendente come, per oltre 70 anni, i fondamenti di questo studio siano stati accettati dalla comunità epidemiologica senza alcun tentativo di rivisitazione, malgrado il problema della sedimentazione-evaporazione delle gocce abbia ricevuto grande attenzione in molti altri campi, dalla fisica delle nuvole, alla combustione, alle tecnologie spray, alla stampa ad inchiostro, per citare quelli più noti. Solo recentemente Wang *et al.* (2005) e, successivamente Xie *et al.* (2007) hanno riconsiderato il problema di Wells con la formulazione di modelli fisici che mettevano in conto, se pur in modo semplificato, gran parte dei fenomeni che intervengono², introducendo peraltro il terzo attore del processo, **l'effetto convettivo indotto dal flusso** in cui le particelle sono immerse. Il flusso veniva trattato come un getto, uno schema interpretativo che vedremo al punto 3.4 essere inappropriato.

Il quadro che emerge dallo studio di Xie *et al.* (2007) conferma e corregge i risultati di Wells (1934) come segue:

- Trascurando l'effetto convettivo, si conferma l'esistenza di un diametro critico d_c al di sotto del quale la goccia evapora completamente prima di depositare. Tale valore dipende dall'umidità relativa dell'aria H_r e si riduce molto al crescere di H_r ($125 \mu\text{m}$, $100 \mu\text{m}$, $85 \mu\text{m}$ e $60 \mu\text{m}$, per $H_r = 0\%$, 50% , 70% e 90% , rispettivamente). Tali valori sono comunque più bassi di quelli previsti da Wells (1934).
- Includendo l'effetto convettivo del solo campo medio dovuto al getto, il quadro si modifica ulteriormente: le gocce più grandi abbandonano il getto rapidamente e

² Il processo di evaporazione è il risultato degli scambi di calore e di massa che si verificano in corrispondenza dell'interfaccia goccia-aria. Nell'ambito dello schema puramente diffusivo (fase gassosa ferma), entrambi questi processi originano dall'esistenza di un gradiente (di temperatura e di concentrazione del vapore rispettivamente) in corrispondenza dell'interfaccia: la goccia, proveniente dall'apparato respiratorio, è più calda dell'aria, la concentrazione di vapore nel gas all'interfaccia è maggiore della concentrazione di vapore a distanza dalla goccia. In presenza di moto della fase gassosa intervengono anche effetti convettivi, sia quelli associati al campo medio che quelli dovuti a fluttuazioni turbolente -- se il suo moto è effettivamente tale. Quest'ultimo importante aspetto è ignorato da Xie *et al.* (2007) (ma si veda la discussione al punto 4.4).

depositano, le gocce intermedie abbandonano il getto ed evaporano totalmente prima di depositare, le gocce più piccole sono trasportate dal getto fino a quando evaporano totalmente trasformandosi in nuclei secchi. Inoltre, la distanza orizzontale percorsa dalla goccia prima di depositare (o evaporare) è fortemente dipendente dalla velocità iniziale del getto (che vedremo essere fortemente dipendente dalla tipologia dell'emissione respiratoria), oltreché dalle dimensioni della particella e dall'umidità relativa dell'aria.



- Fig. 6 Distanze orizzontali percorse da gocce di dimensioni diverse al variare della velocità iniziale U_0 del getto in cui le gocce sono immerse, che parametrizza attività respiratorie diverse.
- La Figura 6 mostra che il diametro delle particelle che raggiungono la massima distanza cresce da $30 \mu\text{m}$ a $50 \mu\text{m}$ per velocità iniziali crescenti da 1 a 50 m/s rispettivamente. E inoltre:

Le gocce non oltrepassano la distanza di 1 m per velocità del getto di 1 m/s (corrispondente a respiro normale), ma raggiungono distanze superiori a 6 m per velocità di 50 m/s (corrispondente ad uno starnuto)!

- Infine, le simulazioni mostrano che, al diminuire dell'umidità relativa, crescendo la rapidità del processo di evaporazione, le dimensioni delle particelle che raggiungono una distanza di 2 m prima di evaporare diminuisce e il numero di particelle che evaporano totalmente cresce. Ciò suggerirebbe che basse umidità favoriscano la propagazione del contagio per via aerea, confermando i risultati dello studio di Wang *et al.* (2005). In effetti, come abbiamo riportato in precedenza (cfr. 3.1), l'infettività dei coronavirus è influenzata in maniera drastica dalla reciproca interazione tra umidità relativa e temperatura.

Queste conclusioni assumono che la capacità infettiva di un nucleo residuale secco di una gocciolina resti significativa, e, come vedremo al punto 4.4, dipendono in modo cruciale dall'aver trascurato il ruolo che la turbolenza del flusso bifase emesso dal soggetto può svolgere sull'evoluzione del campo di umidità e, quindi, dello spettro di goccioline emesso.

3.3 Contagio 'vicino', contagio 'lontano'?

La comunità scientifica non ha raggiunto un consenso unanime sulla relativa importanza dei diversi meccanismi nel contagio nel caso di diverse malattie. In particolare, il ruolo della trasmissione aerea a distanza è stato enfatizzato per l'influenza, la tubercolosi, il raffreddore e la pertosse (Fennelly *et al.*, 2004; Tellier, 2006, 2009; Atkinson e Wein (2008); Fabian *et al.*, 2008; Clark e de Calcina-Goff, 2009) mentre studi sulla SARS hanno suggerito l'importanza di entrambe le tipologie di trasmissione, cioè sia del contagio vicino che di quello lontano (e.g. Wong *et al.*, 2004; Yu *et al.*, 2004). Per quanto concerne il SARS-CoV-2 permane una notevole incertezza (Lewis, 2020). In alcuni recenti preprints (Liu *et al.*, 2020; Santarpia *et al.*, 2020) vengono riportati rilievi di RNA virale da SARS-CoV-2 in aerosols raccolti in diversi luoghi di un ospedale di Wuhan e dintorni e in stanze di un ospedale del Nebraska. Deve però essere sottolineato che la presenza dell'RNA del SARS-CoV-2 virale **non corrisponde alla presenza del virus infettivo**.

L'incertezza sulle modalità di contagio non deve meravigliare poiché un'approfondita risoluzione del dilemma contagio vicino-contagio lontano richiede che sia preventivamente affrontato un ampio ventaglio di questioni, che complicano notevolmente il quadro delineato nel paragrafo precedente. Esse riguardano la comprensione dei processi fluidodinamici che sottendono le diverse fasi del processo attraverso cui il virus passa dalle vie respiratorie dell'infetto al target finale, il soggetto suscettibile. Come si formano queste emissioni nell'apparato respiratorio? E come si trasformano nelle goccioline del flusso bifase emesso dall'infetto? Quale è la loro distribuzione granulometrica? Si può identificare una loro dimensione caratteristica per la quale la distinzione gocce grandi-gocce piccole utilizzata dagli infettivologi abbia un fondamento fluidodinamico? Quale evoluzione subisce il flusso bifase e in che misura tale evoluzione è influenzata dalla turbolenza del getto prodotto dall'emissione respiratoria?

Esamineremo lo stato delle conoscenze su queste questioni nel punto 4. E lo faremo con riferimento non solo al caso in cui il flusso bifase origini da espulsioni violente, quelle associate a tosse e starnuti. È infatti noto da tempo, ed è stato confermato da studi più recenti (vedi punto 4.1), che le normali funzioni della respirazione e dell'espressione vocale danno luogo all'emissione di grandi quantità di di aerosol, in forma di gocce piccole, invisibili ad occhio nudo e facilmente inalabili. Sufficientemente grandi, tuttavia, da poter ospitare particelle di virus. Questo aspetto appare di grande rilievo poiché consentirebbe di spiegare se sia questo secondo modo di emissione della carica virale a giustificare il ruolo apparentemente svolto, nella trasmissione del contagio da SARS-CoV-2, dagli infetti asintomatici o debolmente sintomatici, che per definizione non tossiscono né starnutiscono. In particolare, il modello epidemiologico di Li *et al.* (2020) suggerirebbe che 86% circa degli infetti a Wuhan, prima dell'implementazione del *lockdown*, erano individui che non erano stati sottoposti a test perché asintomatici o debolmente sintomatici.

Resta, infine, una questione cruciale: in che misura questi processi sono influenzati dalle condizioni ambientali, dunque temperatura e umidità dell'aria, oltreché presenza di correnti legate alla ventilazione naturale o forzata degli ambienti? Lo stato delle conoscenze su quest'ultima questione verrà analizzato al punto 4.5.

4. Problemi fluidodinamici nella trasmissione del contagio.

Nella rassegna che segue, procederemo con un approccio induttivo, facendo cioè emergere i problemi sulla base delle questioni aperte che lo sviluppo della ricerca ha progressivamente

evidenziato. Il lavoro di Mittal et al. (2020) offre a tal riguardo spunti di riflessione molto interessanti.

4.1 Caratteristiche delle particelle emesse nelle funzioni respiratorie

I primi lavori di Flügge (1897) e Wells (1934) hanno attratto l'attenzione della comunità scientifica anzitutto sulla necessità di caratterizzare meglio lo spettro delle gocce associate alle emissioni provenienti dall'apparato respiratorio. Quest'attenzione si è andata dipanando nel tempo fino dagli anni '40 dello scorso secolo. E va osservato che già nello studio di Duguid (1946) erano presenti molte delle motivazioni che guidano l'odierna ricerca, incluso il possibile ruolo degli asintomatici: ".....*The expiratory activities which have been considered productive of droplet-spray, are sneezing, coughing, speaking, laughing and normal breathing. The significance of the part played in the spread infection by each of these activities may be gauged according to the number of droplets which it produces and according to the frequency of its performance. Generally, it has been found that sneezing and coughing produce many droplets, while speaking, laughing and breathing produce few. These latter activities may, however, be of considerable importance, for their performance is frequent and, moreover, they afford the only means of droplet-spray production in the case of healthy carriers, who normally neither cough nor sneeze.....*" (Duguid, 1946, pg. 385-386). E ancora: "... *Thus, to assess the chances of air infection being produced by droplet-spray, information is required concerning the localities from which droplets, especially small droplets, may originate during the various expiratory activities, and also concerning the numbers of droplets which may arise from each site....*" (Duguid, 1946, pg. 387).

Da qui lo sforzo considerevole dedicato al problema della misura della distribuzione granulometrica delle gocce espulse, sia nel caso di espulsioni violente (dovute a starnuti o colpi di tosse) che in quello delle emissioni ordinarie (dovute a respiro o emissione vocale). L'ipotesi implicita di quasi tutti gli studi consiste nel ritenere che **le gocce espulse si formino all'interno dell'apparato respiratorio o attraverso l'articolazione vocale, dunque prima dell'emissione**. Ciò che differenzia gli studi, oltre alla tipologia dell'emissione analizzata, è la diversa tecnica sperimentale utilizzata per la misura della distribuzione granulometrica delle particelle emesse. Il quadro che emerge da una rassegna di questi contributi è sorprendente: **le distribuzioni granulometriche ottenute dai diversi Autori differiscono enormemente**. Riportiamo in Figura 7 un confronto proposto da Han *et al.* (2013) fra i suoi risultati e quelli ottenuti da altri Autori. Pur riguardando solo una parte dei lavori presenti in letteratura, tuttavia tale confronto rappresenta a nostro avviso un'immagine paradigmatica dell'incertezza che ancora regna su questa questione. Qualche dettaglio sui rilievi effettuati dai diversi autori a partire da Wells (1934) sono riportati in Appendice.

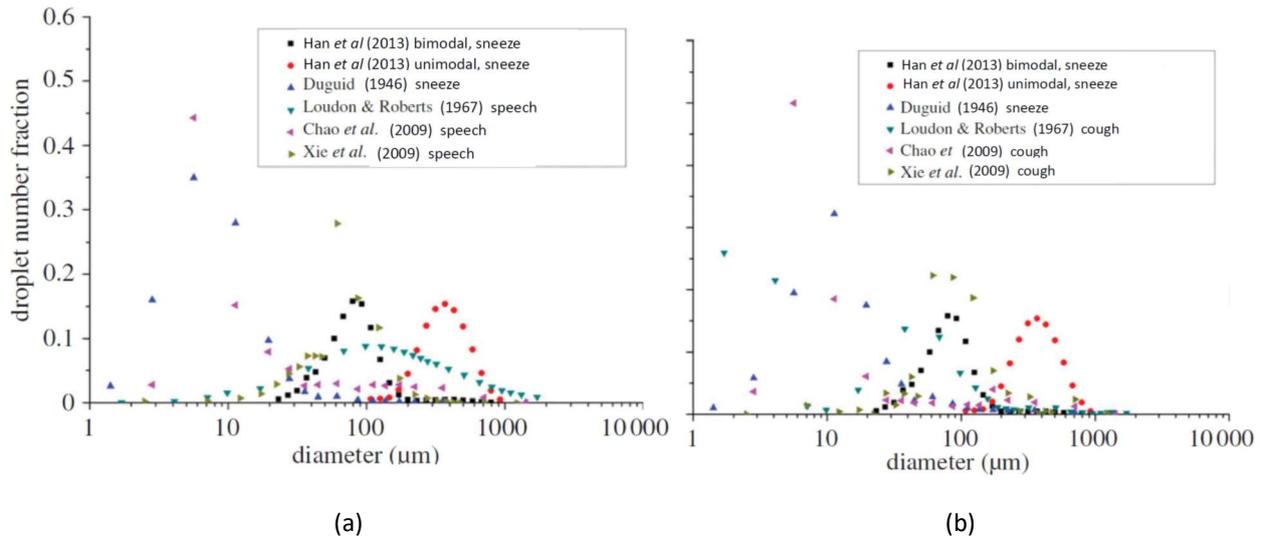


Fig. 7 Confronto fra distribuzioni granulometriche di gocce emesse attraverso starnuti-emissioni vocali (a) o starnuti-tosse (b) secondo i rilievi di diversi Autori (modificato da Han *et al.*, 2013)

Le cause di questo elevato grado di incertezza sono numerose. Alcune sono legate alle diverse modalità di misura. In particolare, come discusso da Han *et al.* (2013), la diversa distanza fra posizione dell'emissione e posizione dello strumento di misura implica un diverso ruolo del meccanismo di evaporazione. I diversi sistemi di misura hanno poi certamente precisioni diverse, anche se non si tratta di differenze sufficienti a spiegare variazioni così drammatiche nei risultati.

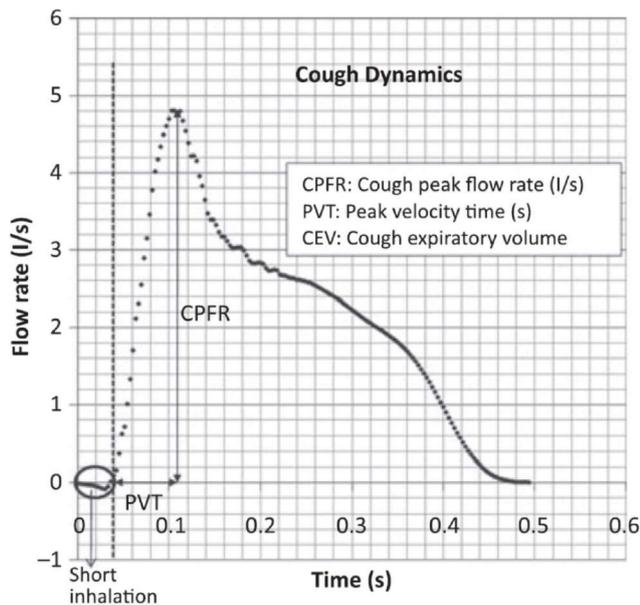
Restano da esplorare due aspetti cruciali, su cui la ricerca sta iniziando a fare importanti passi: i meccanismi fluidodinamici con cui si formano le emissioni respiratorie ed i meccanismi fluidodinamici con cui esse evolvono a monte e a valle del processo di espulsione. A questi aspetti sono dedicati i paragrafi che seguono.

4.2 Fluidinamica del processo di emissione: Osservazioni sperimentali

Al fine di evidenziare i meccanismi fisici che intervengono nella fase di espulsione, è opportuno analizzare distintamente tosse, starnuto, respiro e voce.

Tosse.

Le proprietà integrali delle emissioni associate a colpi di tosse sono state ampiamente analizzate. Riportiamo nella Figura 8 l'andamento caratteristico del flusso emesso, con l'indicazione di alcune grandezze caratteristiche per le quali la tabella fornisce stime ottenute da Gupta *et al.* (2009). Si noti come, nella fase iniziale dell'evento, si abbia una breve e debole inalazione anziché espirazione da parte del soggetto. La durata tipica dell'evento è di 200-500 ms. Misure dell'evoluzione dell'apertura della bocca fornivano inoltre valori medi di $(4 \pm 0.95) \text{ cm}^2$ per i soggetti maschili. E, infine, il numero di Reynolds veniva stimato intorno a 10^4 . Valori analoghi di questi parametri sono stati ottenuti da altri Autori, come discusso da Gupta *et al.* (2009) e da Bourouiba *et al.* (2014).



	Male	Female
CPFR	3–8.5 l/s	1.6–6 l/s
CEV	400–1600 ml	250–1250 ml
PVT	57–96 ms	57–110 ms

Fig. 8 Andamento caratteristico della portata di aria emessa nel corso di un evento di tosse. In tabella i valori misurati della portata d'aria al picco dell'espirazione (CPFR), il volume totale espirato (CEV) e i tempi in cui si osserva il picco di velocità di emissione (PVT) (riprodotto da Gupta *et al.*, 2009)

Progressi nella comprensione della meccanica del processo di emissione sono stati fatti recentemente visualizzando la nuvola generata nelle diverse tipologie di emissione respiratoria con l'aiuto di tecniche Schlieren o di cinematografia ultrarapida (si veda Gupta *et al.*, 2009, per una rassegna dei primi lavori). Di particolare rilievo è il recente contributo di Bourouiba *et al.* (2014) su cui è opportuno soffermarsi.

Le immagini sono state registrate con una frequenza di 1000-4000 immagini al secondo (*fps*), aggiungendo, in alcuni esperimenti un generatore di fumo che consentiva il *tracking* della fase gassosa. Le emissioni davano luogo ad una nuvola turbolenta di gas contenente gocce in sospensione. Le più grandi seguivano traiettorie balistiche non influenzate apprezzabilmente dal moto della fase gassosa, mentre le più piccole restavano in varia misura in sospensione nella nuvola turbolenta, il che consentiva loro di raggiungere distanze maggiori.

La Figura 9 (a–d) mostra il risultato della visualizzazione di un colpo di tosse registrato a 1000 *fps*. La sequenza illustra l'evoluzione della nuvola fino a 106 *ms* dopo l'inizio delle emissioni visibili delle goccioline. Le Figure 9 (a–c) suggeriscono che nella fase iniziale la nuvola assume una forma a cono e presenta un'alta densità di goccioline emesse. La Figura 9e mostra le traiettorie balistiche delle gocce più grandi, apparentemente non molto influenzate dal flusso della fase gassosa. Quest'ultimo, visualizzato attraverso l'iniezione di fumo (Figura 9f), è stato registrato a 2000 *fps*.

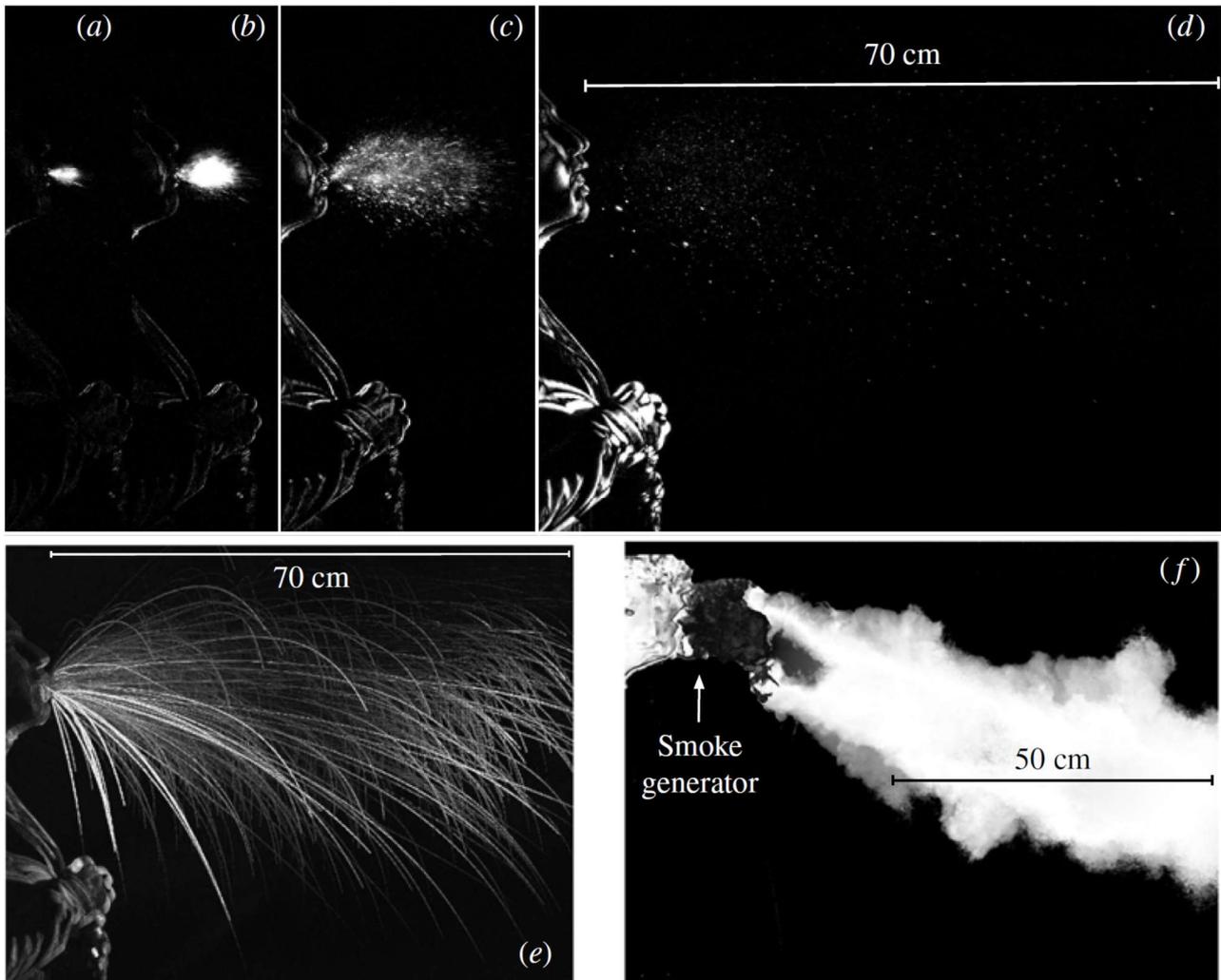


Fig. 9. Immagini della nuvola emessa attraverso un colpo di tosse, registrate con una frequenza di 1000 *fps*. (a) 0.006 s, (b) 0.01 s, (c) 0.029 s and (d) 0.106 s. In (e) sono illustrate le traiettorie balistiche delle goccioline più grandi. In (f) la visualizzazione con fumo del flusso della fase gassosa registrate con una frequenza di 2000 *fps*. In (e) ed (f) sono sovrapposte le immagini istantanee delle traiettorie delle goccioline e delle particelle di fumo registrate nell'intera sequenza (riprodotto da Borouiba *et al.*, 2014).

Come possiamo descrivere il tipo di flusso visualizzato in Figura 9? Nella Meccanica dei Fluidi omogenei, in presenza di moti indotti da sorgenti localizzate (la bocca nel nostro caso), si distinguono quattro tipologie: **getti**, **puffs**, **plumes** e **thermals**, con categorie intermedie qui irrilevanti. (L'uso delle locuzioni anglosassoni è adottato in quanto ormai comune nella letteratura). Getti e plumes hanno la comune caratteristica di originare da una *sorgente persistente*. Essi tuttavia differiscono tra loro. Infatti, nel primo caso l'azione motrice dominante è la quantità di moto del fluido proveniente dalla sorgente (e.g. un fiume che scarica in mare). Nel secondo caso, dalla sorgente origina un flusso meno (o più) denso dell'ambiente: la forza motrice è in questo caso il cosiddetto effetto di galleggiamento (*buoyancy*), cioè il difetto (o l'eccesso) di gravità associato al fluido più leggero (o più pesante) del fluido ambiente (e.g. il flusso di una ciminiera). *Puffs* e *thermals* sono gli equivalenti di getti e *plumes* quando la sorgente non è persistente. Caratteristica comune a tutte queste tipologie di moto è il fenomeno del cosiddetto *entrainment*, cioè il mescolamento con l'aria dell'ambiente circostante che, essendo inizialmente ferma, tende a rallentare il moto della nuvola all'allontanarsi dalla sorgente. Tale effetto è anche evidenziato dalla divergenza del flusso.

La nuvola emessa da un colpo di tosse, interpretata alla luce del precedente paradigma, presenta un comportamento misto. Nella fase di espulsione prevale il comportamento a getto, poiché l'effetto di galleggiamento della nuvola, legato alla sua temperatura inizialmente maggiore della temperatura ambiente, è in questa fase trascurabile. Conclusa la fase di espulsione, inizia un nuovo regime di evoluzione in cui la nuvola ha sostanzialmente il comportamento di un puff, influenzato tuttavia anche dall'azione di galleggiamento che non è più trascurabile (con caratteristiche dunque che sono anche quelle di un thermal). Quest'ultimo effetto si evidenzia nel carattere curvo della traiettoria della nuvola che, inizialmente inclinata verso il basso di un angolo pari a $24\pm 7^\circ$ rispetto all'orizzontale (Bourouiba *et al.*, 2014) allontanandosi dalla bocca, tende a salire verso l'alto.

Nel caso della nuvola emessa da un colpo di tosse, il fenomeno è complicato dal fatto che la nuvola emessa *non è un fluido omogeneo*, bensì un miscuglio bifase di goccioline disperse in una fase fluida più calda e più umida dell'ambiente esterno. Ciò ha alcune importanti conseguenze: da una parte, come abbiamo visto, le caratteristiche del flusso cambiano perché parte delle goccioline, quelle più grandi, depositano, dall'altra le caratteristiche del miscuglio vanno cambiando all'allontanarsi dalla bocca a causa degli effetti di evaporazione delle goccioline che dipendono dall'evoluzione della temperatura e del campo di umidità relativa. Torneremo su questi aspetti nel prossimo paragrafo, in cui accenneremo ai tentativi di interpretazione esistenti e, soprattutto, ai problemi di ricerca aperti.

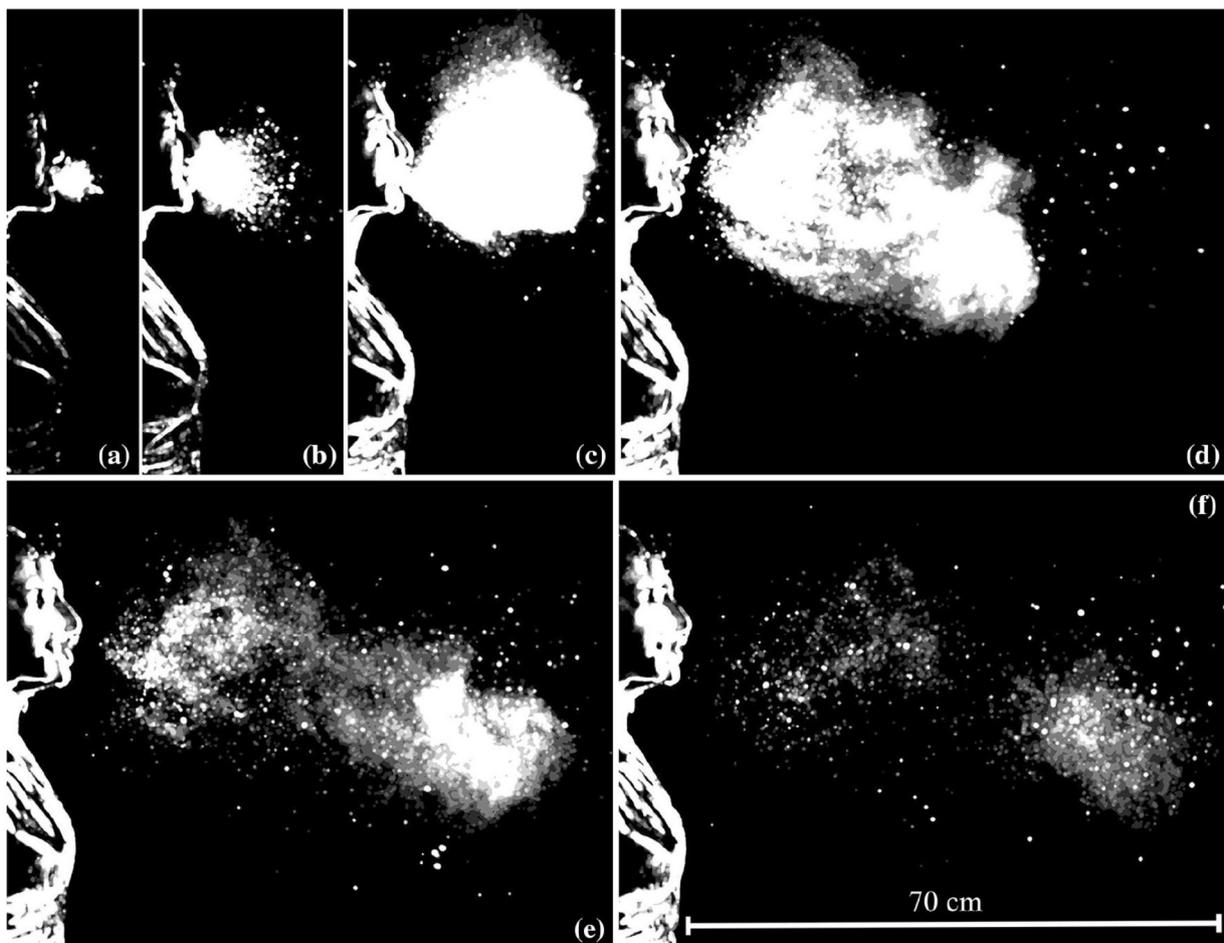


Fig. 10 Immagini della nuvola emessa attraverso uno starnuto, registrate con una frequenza di 1000 *f.p.s.* (a) 0.007 s, (b) 0.03 s, (c) 0.107 s, (d) 0.162 s, (e) 0.251 s, (f) 0.34 s (riprodotto da Bourouiba *et al.*, 2014).

Starnuti.

Le osservazioni descritte in precedenza mostrano che, nel caso della tosse, la nuvola è costituita da un miscuglio bifase di aria umida e gocce *già nelle immediate vicinanze della bocca*. Non così nel caso di uno starnuto. La Figura 10 mostra una sequenza di immagini che visualizzano la nuvola emessa nel caso di uno starnuto emesso a bocca aperta (Bourouiba *et al.*, 2014). La tecnica di rilievo era identica a quella del caso precedente. La durata dell'evento era di 200-250 *ms*. Il numero di Reynolds, all'istante iniziale dell'espulsione, veniva stimato pari a 4×10^4 , dunque l'intensità dell'espulsione era quattro volte maggiore rispetto al caso della tosse. Peraltro, l'evoluzione della nuvola mostra la presenza di effetti analoghi a quelli relativi al caso della tosse, in particolare, la perdita delle gocce più grandi nella fase iniziale e l'effetto di galleggiamento che fa deviare la traiettoria della nuvola. Ma, a differenza del caso della tosse, la nuvola nella fase iniziale è molto densa e rivela la presenza non solo di gocce ma anche di frammenti liquidi di dimensioni rilevanti che rimangono visibili anche nelle immagini a distanza dalla sorgente.

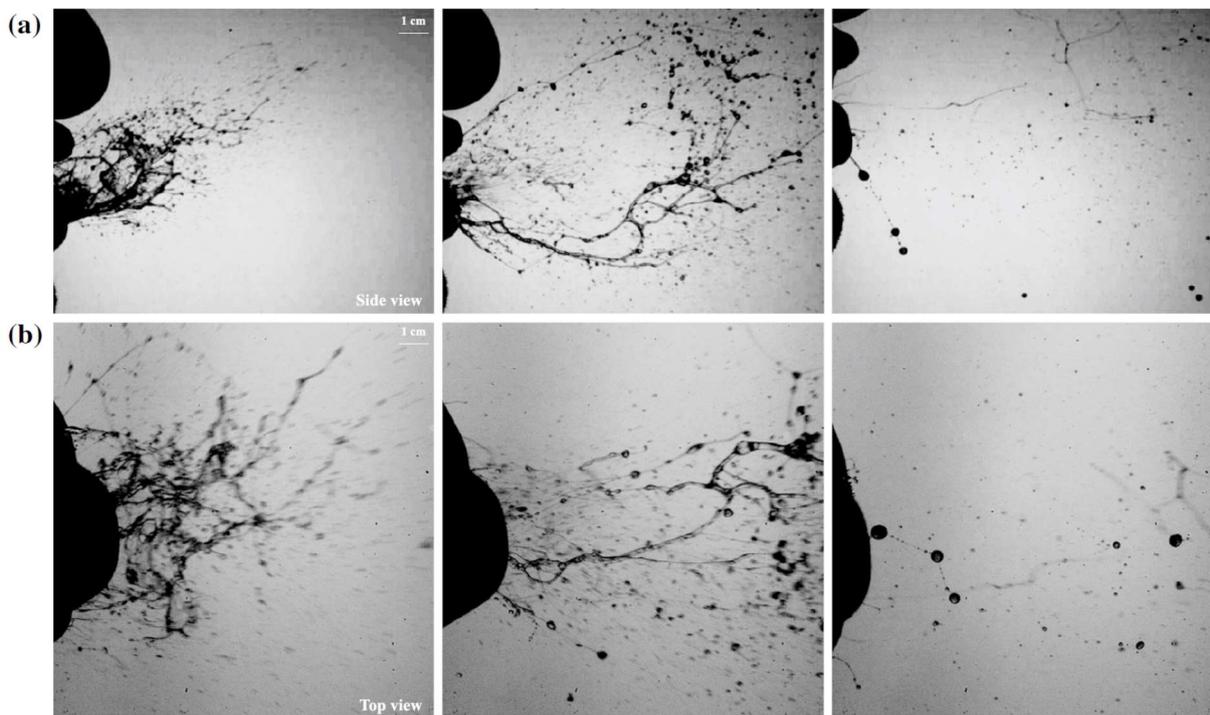


Fig. 11 La prima fase del processo di emissione associata a uno starnuto è visualizzata lateralmente (*a*, 8000 *fps*) e dall'alto (*b*, 2000 *fps*). La formazione delle gocce (colonna di destra, $t=117$ *ms*) è il risultato della frammentazione di strutture più complesse che evolvono da forme estese (*sheets* and *bags*) (colonna di sinistra, $t=8$ *ms*) a strutture allungate, filamenti in cui si formano i prodromi delle gocce (*pearls*) (colonna di centro, $t=21$ *ms*)

Tali osservazioni hanno suggerito a Scharfman *et al.* (2016) di approfondire questo aspetto. La rilevanza della questione è anche legata al fatto che potrebbe aiutare a comprendere le differenze significative che abbiamo rilevato nei risultati delle misure della granulometria delle gocce prodotte dalle emissioni respiratorie. E, in effetti, i rilievi di Scharfman *et al.* (2016) (Figura 11), effettuati con la stessa tecnica ma frequenze di campionamento superiori (8000 *fps*), evidenziano chiaramente che, **nel caso degli starnuti, i processi di frammentazione da cui origina la formazione delle gocce continuano anche al di fuori dell'apparato respiratorio.**

La Figura 11 mostra, infatti, la presenza di vere e proprie gocce solo dopo 117 ms (colonna di sinistra), e la loro formazione appare essere il risultato di processi di frammentazione di strutture più complesse che all'atto dell'espulsione hanno forme estese (note come *sheets* e *bags*) (colonna di sinistra, $t=8$ ms). Queste evolvono quindi in strutture allungate, nella forma di *filamenti* in cui emergono i prodromi delle gocce (*pearls*) (colonna di centro, $t=21$ ms). Come sottolineeremo al punto 4.3, questi risultati aprono un filone di ricerca che meriterà ulteriori sviluppi.

Emissioni ordinarie

L'analisi della fluidodinamica delle emissioni vocali non ha attratto per ora altrettanto attenzione da parte della comunità scientifica. Recentemente Anfinrud *et al.* (2020) hanno riportato i risultati di un esperimento in cui venivano visualizzate le goccioline (e le loro traiettorie) espulse durante semplici emissioni vocali da un soggetto che ripeteva più volte la stessa parola ('stay healthy'). La tecnica consisteva nella generazione di un fascio laser piano, spesso circa 1 mm e alto 15 mm, che veniva immesso lateralmente attraverso fessure praticate nelle pareti laterali di una scatola di cartone ($53 \times 46 \times 62$ cm) il cui interno era stato dipinto di nero. Quando il soggetto scandiva una parola, emetteva goccioline che, percorsa una distanza di 50- 75 mm, incontravano il fascio laser. Attraversandolo, ciascuna di esse produceva un flash (Figura 12B). La luminosità del flash dipendeva dalla dimensione della particella e dalla frazione di tempo in cui essa restava presente in un singolo fotogramma del video che riprendeva l'esperimento con una frequenza di 60 fps (il video originale è scaricabile dal sito <https://doi.org/10.5281/zenodo.3770559>).

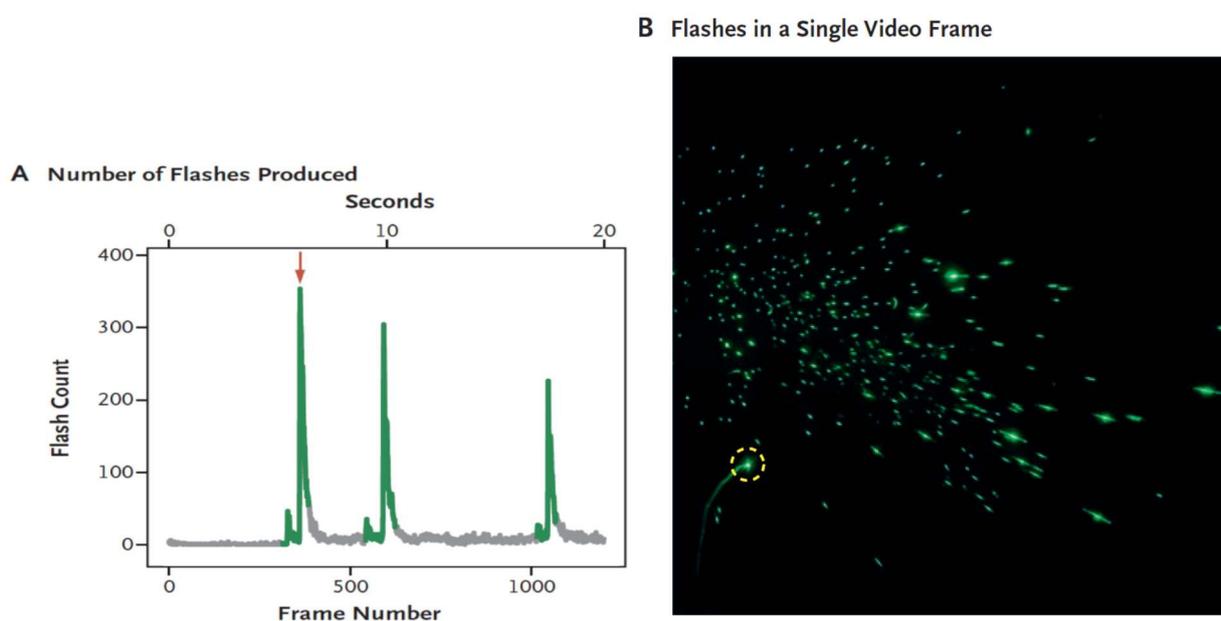


Fig. 12 Il pannello A mostra il numero dei flash registrati in un singolo fotogramma di un video con frequenza di 60 fps. Il colore verde indica l'emissione vocale. Si nota che nei periodi silenti (striscia grigia) il numero dei flash non si azzerava immediatamente, presumibilmente perché alcune goccioline permanevano nella scatola per qualche secondo. Il pannello B mostra uno dei fotogrammi corrispondente all'istante in cui l'emissione di goccioline risultava massima (freccia nel pannello A). La diversa luminosità dei flash fornisce un'indicazione della diversa dimensione della gocciolina (modificato da Anfinrud *et al.*, 2020).

La Figura 12 A mostra che il numero di flash presenta un massimo (vedi freccia). Ciò accadeva quando veniva pronunciata la “th” della parola “healthy”. La ripetizione della stessa frase tre volte, con brevi intervalli, produceva simili emissioni, con valori massimi del numero di flash che raggiungevano il valore di 347 quando l’altezza del suono emesso era massima e si riducevano (227) per valori minori dell’altezza di suono.

Più recentemente, lo stesso gruppo di studiosi (Stadnytskyi *et al.*, 2020) ha ulteriormente elaborato i risultati delle visualizzazioni.

In breve: con l’aiuto di immagini ad alta risoluzione è stato stimato il numero totale di goccioline raccolte nel box moltiplicando il numero di goccioline visualizzato per il rapporto fra volume del fascio laser e volume del box. Durante l’esperimento un ventilatore manteneva in sospensione le goccioline. Il ventilatore veniva spento 10 s dopo la fine dell’emissione vocale, ma il video proseguiva la rilevazione per 80 minuti. Sulla base del decadimento esponenziale del numero di particelle rilevate, gli Autori associavano alle particelle un tempo di sedimentazione che consentiva loro di stimarne le dimensioni. Queste ultime venivano quindi riportate alle dimensioni iniziali (all’atto dell’emissione) con semplici stime della loro evaporazione.

Con l’aiuto di questa tecnica emerge una stima del numero di goccioline associabile ad emissioni vocali, pari a circa 2.600 *g/s* (goccioline al secondo), valori molto superiori a quelli rilevati da Duguid (1946), Morawska *et al.* (2009), Chao *et al.* (2009) e Asadi *et al.* (2019) con l’uso di tecniche che evidentemente risultavano meno efficienti. Le dimensioni delle goccioline emesse venivano stimate pari a 12-21 μm .

Assumendo, infine, una carica virale pari a 7×10^6 virioni per millilitro (Wölfel *et al.*, 2020, **cf** 3.1), Stadnytskyi *et al.* (2020) pervengono alla seguente conclusione:

un soggetto infetto che parla a voce alta per un minuto emette mediamente 1000 goccioline contenenti un virione, che restano in sospensione per almeno otto minuti.

Tali stime si basano su valori medi della carica virale, che, come sottolineato al punto 3.1, presentano forti variazioni nei diversi pazienti, con picchi che possono superare 2×10^9 virioni per millilitro, che aumenterebbero di due ordini di grandezza il numero di goccioline infette emesse parlando. Inoltre, la tecnica di visualizzazione non consentiva di rilevare le particelle più piccole, sicché le stime precedenti vanno comunque considerate conservative.

4.3 Una breve digressione: dove e come si formano le goccioline?

Abbiamo finora ignorato un aspetto che influenza solo indirettamente la fluidodinamica della nuvola emessa e, quindi, del contagio: dove e come si formano le goccioline presenti nelle emissioni respiratorie?

Si tratta di una questione concettualmente rilevante, che pone anch’essa problemi fluidodinamici aperti. Alla formazione delle goccioline concorrono infatti molti fluidi di diversa consistenza e viscosità presenti nell’apparato respiratorio e diversi processi che dipendono dal tipo di emissione e dalla geometria degli spazi interni, a volte variabile come avviene nel caso dell’articolazione vocale. Al punto precedente abbiamo visto che le emissioni cambiano molto a seconda che siano causate da uno starnuto, dalla tosse o dalle emissioni ordinarie della respirazione e del parlato. Sono in questi casi coinvolte diverse velocità di emissione dell’aria ed è inevitabile che cambi l’efficacia

con cui i processi fluidodinamici, che caratterizzano l'interazione del flusso d'aria con le superfici umide degli organi interni, asportano frammenti liquidi che, successivamente, danno in vario modo luogo alla formazione delle goccioline. Nel seguito accenniamo ad alcuni di questi processi, che hanno ricevuto attenzione in letteratura. Essi avvengono nei condotti bronchiali. È noto, infatti (e.g. Grotberg, 1994), che le vie respiratorie sono ricoperte, in larga parte della rete, da un doppio strato di liquido costituito da uno strato di siero cui si sovrappone uno strato di muco (Figura 13). Il liquido ha la funzione da una parte di lubrificare la superficie interna delle vie respiratorie e dall'altra di intrappolare i germi, le sostanze estranee inalate ed altri materiali di rifiuto. Il siero è un fluido Newtoniano, mentre il muco è un materiale complesso che ha caratteristiche visco-elastiche, presenta una tensione critica per lo scorrimento ed è tixotropico (e.g. Powell *et al.*, 1974). Lo spessore del bi-strato è tipicamente dell'ordine di 5-10 μm nelle vie più grandi. La rimozione dello strato di muco costituisce naturalmente un meccanismo primario di difesa polmonare.

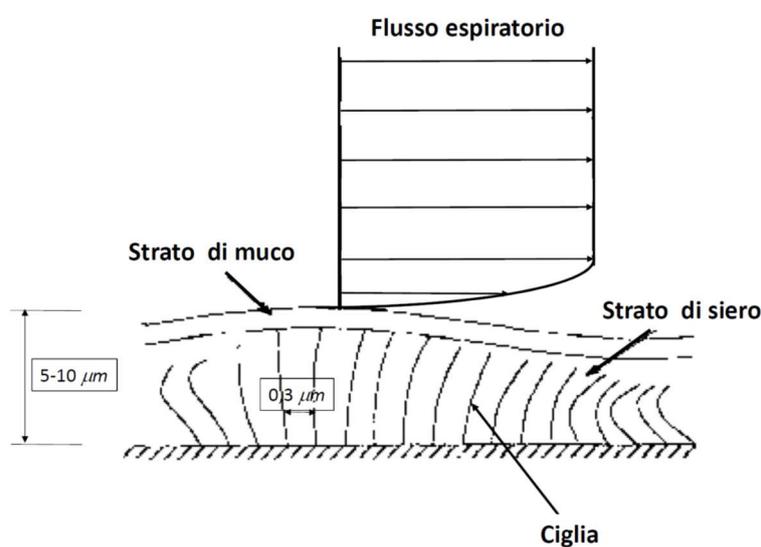


Fig. 13 Schema illustrativo dello strato liquido che ricopre le vie respiratorie.

La questione qui rilevante è: qual è la meccanica di questo processo? E come esso determina la formazione delle goccioline espulse e di altre eventuali strutture secrete?

Il meccanismo gravitazionale e quello dovuto alla propulsione ciliare provvedono alla bisogna in condizioni ordinarie. In particolare, il secondo meccanismo è stato oggetto di attenzione in letteratura da molto tempo (si vedano in particolare Blake 1971, 1975; Ross e Corrsin, 1974). Essenzialmente, le ciglia sono soggette a battiti con frequenza di circa 1,5 Hz e il battito di ciascun ciglio dà luogo al moto della sua punta che segue una traiettoria ellittica. Inoltre, i battiti sono tra loro coordinati e inducono complessivamente la propagazione di un'onda con lunghezza d'onda di 30 μm circa che si propaga nella direzione della bocca producendo un trasporto di muco con velocità di circa 0,2 mm/s . Un processo, dunque, lento di non diretta rilevanza per l'oggetto di questo rapporto.

La formazione delle goccioline è attribuita a processi più intensi.

Occorre qui premettere che la velocità dell'aria nella trachea (diametro intorno a 14 mm) in condizioni di ordinaria respirazione (portata misurata di 1 l/s al picco) si aggira intorno a 6,5 m/s

(Ross *et al.*, 1955). Durante un colpo di tosse questo valore cresce molto: la portata d'aria raggiunge valori di oltre 7 l/s e, con la stessa area della sezione della trachea, ciò implicherebbe velocità di 46,5 m/s. Questi valori crescono ulteriormente se si tiene conto del fatto che, durante un colpo di tosse, la trachea collassa e il suo diametro all'incirca si dimezza. Ciò suggerirebbe valori di velocità superiori a 200 m/s e numeri di Reynolds intorno a 2×10^5 ai quali il moto dell'aria sarebbe certamente turbolento (Ross *et al.*, 1955)!

Un flusso d'aria caratterizzato da velocità dell'ordine di decine di m/s è potenzialmente in grado di destabilizzare l'interfaccia aria-muco attraverso un ben noto meccanismo di instabilità idrodinamica (**instabilità di Kelvin-Helmholtz**). Essenzialmente, il flusso d'aria genera sull'interfaccia tensioni tangenziali sufficientemente intense da dar luogo all'amplificazione di perturbazioni che conducono alla formazione di onde d'interfaccia. L'ampiezza di queste può crescere in misura tale da dar luogo alla frammentazione del muco in goccioline (si pensi ad un'onda di mare che frange). Il flusso d'aria si trasforma così in un flusso bifase, un meccanismo di efficace rimozione del muco. Questo processo è stato analizzato in numerosi lavori recenti. In particolare, Moriarty e Grotberg (1999) hanno dimostrato, attraverso un'analisi di stabilità lineare del bistrato soggetto ad un flusso d'aria, che l'instabilità si manifesta per valori della velocità del flusso d'aria fortemente dipendenti dalla tensione superficiale σ all'interfaccia aria-muco. La velocità critica si aggira intorno a 5 m/s assumendo $\sigma = 10 \text{ dyn/cm}$. Naturalmente, l'analisi di stabilità lineare non è in grado di prevedere la struttura delle perturbazioni quando esse assumono ampiezza finita. Al fine di analizzare il processo di frammentazione dell'interfaccia con la formazione delle goccioline sono necessarie simulazioni numeriche. Queste si rivelano tuttavia particolarmente complesse, come sottolineato da Scardovelli e Zaleski (1999), a causa, in particolare, del cambiamento della topologia dell'interfaccia e all'insorgere di cuspidi quando due interfacce si riconnettono. Si tratta, tuttavia di un settore di ricerca in rapida evoluzione, per la sua rilevanza in numerosi settori dell'ingegneria, che si avvantaggia dei continui progressi nella potenza computazionale (Wang *et al.*, 2016).

Un secondo meccanismo di instabilità che può dar luogo alla frammentazione dello strato di muco è dovuto all'effetto della tensione superficiale all'interfaccia aria-strato liquido di parete. Tale meccanismo è noto come **instabilità di Plateau-Rayleigh**. Rayleigh (1879), confermando precedenti osservazioni sperimentali di Plateau (1873), dimostrò infatti teoricamente che una colonna cilindrica di liquido non viscoso in caduta libera è instabile rispetto a perturbazioni di lunghezza pari alla circonferenza della colonna e si frammenta in gocce.

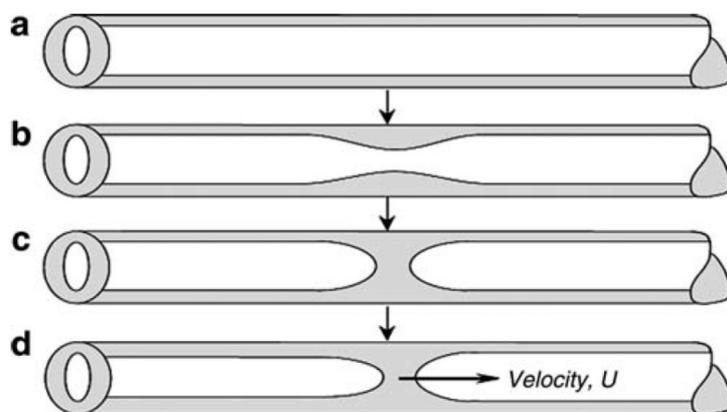


Fig. 14 Illustrazione del meccanismo di formazione di un'occlusione di una via aerea per la destabilizzazione, alla Plateau-Rayleigh, dello strato di muco che ricopre la parete (riprodotto da Malashenko *et al.*, 2009).

Così, una piccola perturbazione dell'interfaccia aria-muco nelle vie aeree può indurre un'analogia instabilità (Figura 14): se l'amplificazione di tali perturbazioni porta l'interfaccia a raggiungere l'asse del condotto, si produce la formazione di un'occlusione della via aerea (Romanò *et al.*, 2019). L'occlusione può quindi propagarsi fino a disintegrarsi in piccole gocce (Malashenko *et al.*, 2009).

Ulteriore meccanismo suggerito da Malashenko *et al.* (2009) e Almstrand *et al.* (2010) riguarda la **rottura del menisco di muco** in corrispondenza dei bronchioli. Questi condotti, collocati alla periferia dell'apparato respiratorio, hanno dimensione inferiore al millimetro e possono collassare durante la fase di espirazione. La loro successiva riapertura nella fase di inspirazione può dare appunto luogo alla rottura del menisco e alla generazione di goccioline di dimensioni dell'ordine del micron. La modellazione di questo processo costituisce un ulteriore problema aperto di non facile soluzione.

Le osservazioni di Scharfman *et al.* (2016) rivelano, inoltre, che, in occasione di eventi respiratori molto intensi (starnuti), il flusso bifase espulso comprende inizialmente strutture (*bags, sheets, filaments*) da cui è noto (Villermaux, 2007) emerge la formazione delle gocce attraverso un complesso **processo di frammentazione**. La sua quantificazione e la possibile previsione della distribuzione di probabilità dei diametri delle goccioline rappresenta una sfida aperta per la ricerca.

La fluidodinamica dei processi di secrezione salivare, di produzione ed espulsione del muco nasale e del liquido lacrimale che contribuiscono alla formazione del flusso bifase emesso attraverso gli eventi respiratori non sembra aver attratto, per il momento, altrettanta attenzione da parte degli studiosi.

4.4 Interpretazione e modellazione della fluidodinamica dell'emissione: problemi aperti.

Il quadro offerto dalle osservazioni sperimentali discusse al punto 4.2 apre un ventaglio di questioni che non hanno ad oggi ricevuto adeguate interpretazioni.

La costruzione di modelli predittivi per la dinamica della nuvola emessa attraverso eventi respiratori è di grande importanza per la valutazione dei possibili meccanismi di trasmissione del contagio a grande distanza dalle sorgenti.

Qualche tentativo in questa direzione è apparso in letteratura. In particolare, Bourouiba *et al.*, (2014) hanno fornito una semplice interpretazione di loro risultati sperimentali, ottenuti in laboratorio generando un flusso bifase costituito da acqua dolce con particelle più pesanti in essa disperse, che veniva immesso bruscamente, attraverso un pistone, in una vasca contenente acqua salata. Veniva così generata una nuvola che conteneva alcune delle caratteristiche delle emissioni respiratorie. In particolare: il comportamento iniziale a getto, la sua trasformazione in un *puff-thermal* nel campo lontano, e infine l'evoluzione del miscuglio bifase indotta dal processo di entrainment e dalla sedimentazione delle particelle trasportate dalla nuvola. L'interpretazione di Bourouiba *et al.* (2014) è fondata su un modello estremamente semplice sul quale vale tuttavia la pena di soffermarsi brevemente.

La nuvola viene trattata come una massa che evolve mantenendo caratteristiche di **autosimilarità**. Indicando con r il 'raggio' caratteristico della nuvola, l'entrainment viene descritto assumendo che

$r = \alpha s(t)$ con α coefficiente di entrainment stimato dai dati sperimentali ed $s(t)$ coordinata longitudinale del centro di massa della nuvola, definita lungo la sua traiettoria. Il comportamento iniziale a getto viene dunque interpretato imponendo la costanza del flusso di quantità di moto $M_0 \sim \rho r^2 (ds/dt)^2$, una condizione che, insieme all'autosimilarità, si dimostra facilmente condurre alla dipendenza: $s \sim t^{1/2}$. Il comportamento a puff del campo lontano viene interpretato imponendo la costanza della quantità di moto della nuvola $I_0 \sim \rho r^3 (ds/dt)$, che, insieme all'autosimilarità, conduce alla dipendenza: $s \sim t^{1/4}$. Questo risultato conferma peraltro la dipendenza ottenuta originariamente da Kovaszny *et al.* (1973).

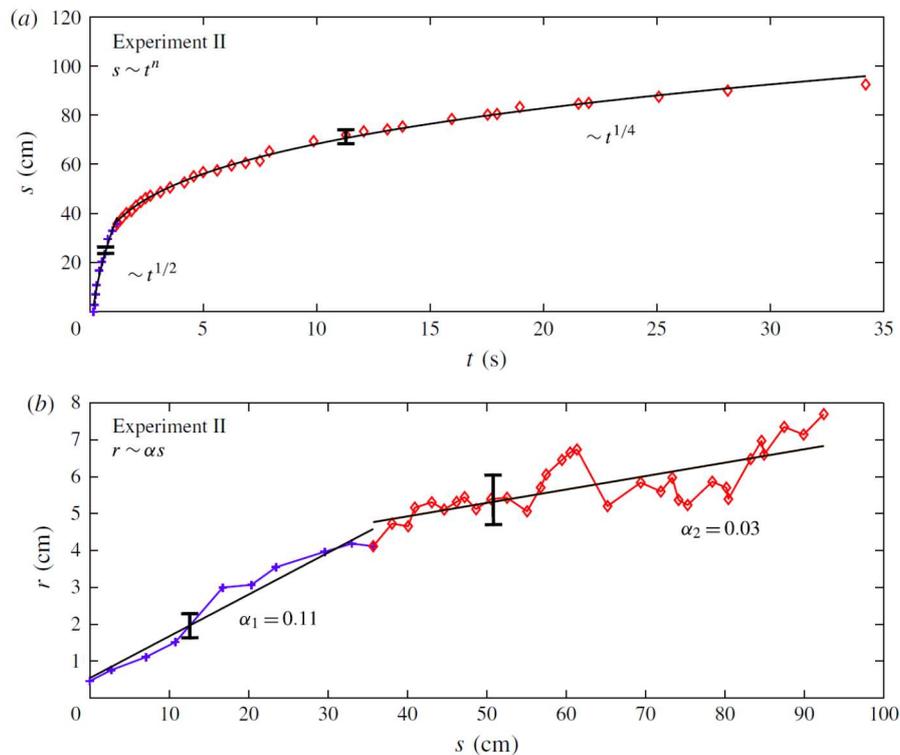


Fig. 15 Risultati delle osservazioni sperimentali di Bourouiba *et al.*, (2014) relativi alla traiettoria della nuvola e alle sue dimensioni (esperimento II) confrontate con le previsioni di un semplice modello teorico, che dipende da un'opportuna scelta dei coefficienti di entrainment (riprodotto da Bourouiba *et al.*, 2014).

La Figura 15a mostra che la dipendenza di s dal tempo si adatta assai bene alle osservazioni sperimentali stimando i coefficienti di entrainment dalla corrispondente dipendenza di r da s illustrata in Figura 15b. Appare in particolare evidente il cambiamento di pendenza nella relazione $r - s$, che indica il passaggio dal comportamento a getto a quello a puff.

Il modello precedente ignora sia gli effetti di galleggiamento sia il carattere multifase del flusso. Bourouiba *et al.* (2014) lo sviluppano successivamente, mantenendo la stessa ipotesi di autosimilarità, ma **introducendo l'effetto di galleggiamento**. Questo implica una progressiva riduzione della quantità di moto della nuvola, e si tiene conto della sua variazione nel corso dell'evoluzione della nuvola per effetto della sola sedimentazione di parte delle particelle trasportate, di cui viene invece ignorata l'evaporazione. La sedimentazione viene trattata sulla base di ipotesi semplificative cui gli Autori sono costretti per l'incapacità del modello di fornire informazioni dettagliate sul campo di velocità associato alla nuvola.

La principale conclusione di questo lavoro consiste nell'affermazione:

gocce di dimensioni inferiori a 50 μm restano in sospensione nella nuvola a sufficienza da raggiungere altezze (4-6 m) tali da interessare i condotti di ventilazione

I limiti di questo modello (e delle sue conclusioni) sono evidenti. Esso sostanzialmente ignora importanti aspetti del fenomeno legati al carattere turbolento del campo di moto ed alla natura bifase della nuvola. Abbiamo visto, infatti che il flusso associato alle emissioni respiratorie è caratterizzato da valori alti ($\sim 10^4$) del numero di Reynolds, parametro adimensionale che, com'è noto, controlla la capacità di un fluido in movimento di creare fluttuazioni del suo campo di velocità. Ad alti numeri di Reynolds, **il flusso in uscita dalla bocca è turbolento** (Frisch, 1995): il suo andamento spazio-temporale è cioè estremamente irregolare, fluttuante. Inoltre, il meccanismo di *entrainment*, non influisce solo sull'effetto di galleggiamento della nuvola, ma induce anche un **impoverimento del suo contenuto di vapore acqueo**.

E' qui bene chiarire che, nel seguito di questa discussione, supporremo che l'ambiente non sia saturo di vapore acqueo e che abbia, inizialmente, una temperatura inferiore a quella dell'aria espulsa dalla bocca. L'ipotesi che l'ambiente sia non saturo di vapore acqueo, nei casi in cui la temperatura della nuvola (circa 30-35 °C in fase di espulsione) sia confrontabile con quella dell'ambiente (per esempio di circa 25 °C), è equivalente ad ipotizzare valori di umidità assoluta dell'ambiente sufficientemente più bassi di quelli dell'aria espulsa dalla bocca. Col passare del tempo, a causa del mescolamento delle due masse d'aria, si abbassa la temperatura della nuvola e si riduce la sua umidità assoluta. Il primo effetto, abbassando la tensione di vapore saturo, favorirebbe la condensazione, ma è subito contrastato dal secondo che favorisce l'evaporazione delle goccioline.

Ma torniamo alla turbolenza. Perché non è solo il campo di velocità che anima la nuvola ad essere turbolento. Anche il processo di mescolamento attraverso cui la nuvola, inizialmente satura di vapore acqueo, si diluisce con l'aria dell'ambiente è molto efficace ed intimamente caotico. In altre parole, il campo di umidità relativa della nuvola è caratterizzato da fluttuazioni turbolente persistenti. Quest'ultimo certamente decade nel tempo ma, fissato un istante arbitrario di osservazione, la sua distribuzione spaziale risulta altamente non uniforme, con ampie fluttuazioni rispetto al valor medio. Si parla anche in questo caso di turbolenza di un campo scalare passivo (Shraiman e Siggia, 2000).

La natura turbolenta del campo di umidità relativa può avere un effetto drammatico sul destino dell'evoluzione delle goccioline di saliva. In un ambiente diverso (per le scale in gioco) rispetto a quello che stiamo considerando, quello dell'alta atmosfera dove si formano le nuvole (un esempio su grande scala dei processi di condensazione/evaporazione che avvengono nella nuvola d'aria espulsa dalla bocca durante un colpo di tosse), il ruolo cruciale delle fluttuazioni turbolente del campo di umidità relativa è stato isolato nel 2005 (Celani *et al.*, 2005). Sono le fluttuazioni turbolente che rendono possibile l'allargamento dello spettro delle taglie delle goccioline di acqua alla fine del processo di condensazione delle stesse. È grazie a tale allargamento dello spettro che le goccioline possono raggiungere velocità terminali diverse tra loro e quindi dare inizio alla seconda fase della loro crescita, quella per urti e coalescenza. Intuitivamente, una popolazione di gocce tutte animate

dalla stessa velocità terminale non permetterebbe l'innesco di urti e quindi non esisterebbe modo di formare una goccia d'acqua di pioggia.

Nel caso delle goccioline di saliva non è certo il fenomeno di crescita per condensazione a dominare la scena, almeno in media. Al contrario, essendo le goccioline espulse, in generale, in un mezzo sotto-saturo, le domande interessanti, ad oggi ancora in buona parte inevase, riguardano **il modo con cui tali goccioline evaporano e con quali tempi**. Come abbiamo visto al punto 3.2, la valutazione di tali tempi caratteristici è ad oggi effettuata attraverso argomenti di campo medio. Questi ultimi ignorano gli effetti delle fluttuazioni turbolente o li descrivono in modo estremamente semplificato (si veda per esempio *Liu et al.*, 2017). Al contrario, invertendo il modo di ragionare seguito in relazione a quanto accade in una nuvola nell'alta atmosfera, si può facilmente immaginare che tali effetti giochino un ruolo molto importante nel modo in cui le goccioline seguono il loro destino di evaporazione. Goccioline che riescano a stazionare abbastanza a lungo in zone meno sotto-sature di altre avranno un tasso di evaporazione più lento di altre che, per caso, abbiano passato tempi più lunghi in zone dove l'umidità relativa era più bassa. Si può immaginare che, a valle di questo fenomeno, le taglie delle goccioline di saliva si diversifichino tra loro prima di evaporare completamente. Siccome, come già visto nella prima nota al punto 3.2, le velocità di sedimentazione delle goccioline sono proporzionali al quadrato del loro raggio, per effetto delle fluttuazioni turbolente che potrebbero allargare lo spettro delle taglie delle gocce, ci si può attendere la comparsa di goccioline che sedimentano, in modo anomalo, più rapidamente di quanto le teorie di campo medio prevedano. Similmente, ci si può attendere un numero, anche questo anomalo, di goccioline capaci di sedimentare su tempi scala più lunghi, avendo esse perso precocemente (rispetto alle previsioni di campo medio) il loro carico liquido ed essendo ridotte al solo volume del nucleo (salino) secco. Tali goccioline, caratterizzate da una evaporazione più precoce rispetto a quanto la previsione di campo medio fornirebbe, si aggiungerebbero, grazie all'effetto della turbolenza, al gruppo di goccioline potenzialmente più pericolose per la diffusione del virus (eventualmente) da esse trasportato, quelle, cioè, che stazionano nel *puff* turbolento più a lungo.

Ma, naturalmente, come abbiamo anticipato al punto 3.2, le considerazioni sopra esposte dipendono in modo cruciale dalla risposta ad una domanda fondamentale: **la capacità infettiva di una gocciolina ridottasi a nucleo secco si mantiene inalterata? E per quanto tempo?** E', in ogni caso, fondamentale **l'approfondimento del ruolo della turbolenza**, che detta il destino della fase di evaporazione delle goccioline. Capire il processo in dettaglio, su basi quantitative, è indispensabile per la formulazione di previsioni più realistiche, in relazione a temi di distanziamento sociale e operazioni di contenimento del contagio. Ed è altresì fondamentale il **dialogo fra l'esperto di fluidodinamica ed il virologo**.

4.5 Ruolo della ventilazione naturale e forzata

Le tipologie di espulsione analizzate nei punti precedenti sottintendevano un ambiente in quiete con proprietà termodinamiche assegnate (temperatura e umidità relativa per esempio). Il tema che affrontiamo adesso riguarda il possibile ruolo dell'ambiente sulla diffusione dell'infezione qualora, per ragioni naturali (Linden, 1999), o forzatamente, esso ospiti aria in movimento con ricambio proveniente dall'esterno.

Allo scopo di stimare la probabilità di trasmissione nell'aria di un agente infettivo in ambienti chiusi, soggetto a ricambi d'aria, Riley *et al.* (1978) misero a punto quella che oggi viene chiamata comunemente l'equazione di Wells e Riley. Senza fare esplicito riferimento ai dettagli della formulazione, l'equazione rende quantitativo e razionale quanto l'intuizione suggerisce: per ridurre la probabilità di contagio conviene stazionare il meno a lungo possibile in un ambiente dove siano presenti soggetti "contagianti" e che ci sia un forte ricambio di aria in modo da diluire considerevolmente la densità di virus eventualmente inalabile.

Con l'aggiunta delle informazioni sul tasso di emissione di "dosi infette" (q , espresso in *quanta/s*) immesse nell'aria, della ventilazione polmonare richiesta per ogni soggetto "contagiabile", espresso come portata volumetrica, il modello è in grado di prevedere il numero delle nuove infezioni. Si noti che la definizione di *quantum* consiste in una dose di infezione tale che un suscettibile ad essa esposta ha una probabilità del 63% di essere infettato (Rudnick e Milton, 2003).

Nel derivare l'equazione di Wells e Riley, gli autori fecero due ipotesi fondamentali: (1) l'ambiente è ben miscelato e, (2), in condizioni di stato stazionario. La prima ipotesi implica che una particella infettiva abbia la stessa probabilità di trovarsi in qualsiasi punto dello spazio aereo di un edificio, indipendentemente da quando e dove essa sia stata generata.

Rudnick e Milton (2003) hanno proposto un modello matematico che utilizzando la concentrazione di CO₂ come biomarcatore dell'aria espulsa non richiede l'assunzione di condizioni di stato stazionario. Il modello assume che l'eliminazione delle particelle infettive causate dalla perdita di vitalità, filtrazione, sedimentazione e altri meccanismi siano piccole rispetto alla rimozione mediante ventilazione con aria esterna.

Il modello di Rudnick e Milton (2003) consente una previsione più accurata del rischio di infezioni in edifici moderni dove, per ragioni progettuali e di utilità, la ventilazione con aria esterna varia nel tempo e spesso il suo flusso non può essere misurato con precisione. L'equazione consente anche la stima del rischio negli edifici e in altri ambienti interni con scarso ricambio d'aria dall'esterno.

Le analisi presentate dagli autori mostrano che un aumento del ricambio di aria esterna può prevenire la trasmissione nell'aria di alcune comuni infezioni respiratorie e influenza, ma ha un impatto limitato su malattie altamente contagiose come per esempio il morbillo.

La generalizzazione stocastica del modello di Wells e Riley proposta da Noakes e Sleight (2009) supera anche l'ipotesi (1) relativa alla condizione di ambiente ben miscelato presente nel modello originario. Tale ipotesi è infatti raramente verificata anche negli spazi con i sistemi di ventilazione meglio progettati. Essa è incompatibile con la vicinanza spaziale che può sussistere tra persone suscettibili e persone infette. In particolare, la mancanza di mescolamento tra diverse aree di un edificio sussiste quando si analizza il rischio di infezione in uno spazio costituito da stanze comunicanti, come per esempio i reparti ospedalieri.

Il problema può parzialmente essere risolto utilizzando tecniche di fluidodinamica computazionale (CFD) per simulare il flusso d'aria e la dispersione dei contaminanti, rivelando regioni di buona e cattiva miscelazione e aree con concentrazione di contaminanti elevate che costituirebbero un rischio più elevato per gli occupanti delle stanze.

Un approccio alternativo consiste nell'utilizzo dei cosiddetti modelli di ventilazione zonale o di rete capaci di stimare i flussi di ventilazione in grandi spazi multi-connessi come interi edifici. Sebbene

tali modelli non siano in grado di risolvere i dettagli locali dei flussi d'aria, si sono comunque dimostrati utili nella previsione dei flussi di aria e del trasporto di contaminanti in una vasta gamma di applicazioni, inclusa la ventilazione naturale (Asfour e Gadi 2007).

Tra gli studi di rassegna più completi che indagano il nesso tra la ventilazione negli edifici e la trasmissione di infezione nell'aria va menzionata la rassegna di Li *et al.* (2007).

Gli autori hanno selezionato i 40 migliori studi basati su criteri di analisi quantitativa istituendo a tal fine un comitato di revisione composto da esperti medici e di ingegneria nei settori della microbiologia, medicina, epidemiologia, qualità dell'aria interna e ventilazione degli edifici. La maggior parte dei membri del comitato ha avuto esperienza nella ricerca sull'epidemia della SARS del 2003. Il comitato ha valutato sistematicamente 40 studi originali attraverso valutazione individuale e, successivamente, collegiale. Dieci dei 40 studi esaminati sono stati ritenuti conclusivi per quanto riguarda l'associazione tra ventilazione negli edifici e trasmissione di infezione nell'aria. Esistono, secondo gli autori dello studio, prove consistenti che dimostrano l'associazione tra ventilazione, movimento di aria negli edifici e trasmissione / diffusione di malattie infettive come tubercolosi, varicella, influenza, vaiolo e SARS. **Esistono al contrario, sempre a parere degli autori dello studio, dati insufficienti per specificare e quantificare i requisiti minimi di ventilazione in ospedali, scuole, uffici, case e locali di isolamento in relazione alla diffusione di malattie infettive attraverso la via aerea.**

I sistemi di ventilazione non sono solo in grado di garantire il ricambio di aria dall'esterno ma possono anche modificare le condizioni di umidità relativa dell'ambiente. **Circa il ruolo di tale parametro ambientale, abbinato a quello della temperatura dell'ambiente, sugli effetti della trasmissione virale, le conclusioni della letteratura appaiono molto variegata** (Wen *et al.* 2020). Condizioni ambientali corrispondenti a bassi valori dell'umidità relativa associati a bassa temperatura sembrano favorire la sopravvivenza e la trasmissione di alcuni virus influenzali come il virus respiratorio sinciziale, il rinovirus umano e il virus dell'influenza aviaria (Derby *et al.* 2017, Davis *et al.* 2016, Ikäheimo 2016). È stato osservato al contrario che per gli allergeni degli acari della polvere e altri tipi di virus (Derby *et al.*, 2017, Morawska, 2006, Weber *et al.*, 2008) tali condizioni ambientali appaiono sfavorevoli alla loro proliferazione.

In estrema sintesi, la letteratura esistente sottolinea l'importanza della ventilazione, ma non permette di trarre conclusioni definitive sul ruolo della ventilazione negli ambienti chiusi ugualmente valide per ogni tipo di virus. Appare quindi opportuno continuare la raccolta di dati sul campo e lo sviluppo di modelli fluidodinamici e di infezione sempre più sofisticati per raggiungere quei requisiti minimi attraverso cui definire standard di ventilazione in ospedali, scuole, uffici, case e locali di isolamento che consentano di minimizzare, in modo sostenibile, la diffusione di malattie infettive per via aerea. L'RNA virale può essere molto più stabile della capacità infettiva del virus per cui la presenza di tracce di RNA non corrisponde con il rischio di contagio. L'infettività virale, d'altro canto, è drasticamente influenzata da variazioni combinate della temperatura e dell'umidità relativa (cfr. 3.1).

5. Implicazioni per la valutazione di provvedimenti di protezione dal contagio.

La recente applicazione di modelli epidemiologici all'evoluzione della pandemia da COVID-19 (e.g. Gatto *et al.*, 2020) ha confermato il ruolo cruciale svolto, ai fini dell'attenuazione delle sue

conseguenze, dai drastici provvedimenti (*lockdown*) assunti nei confronti delle attività della popolazione. Il rilassamento di tali provvedimenti ai fini della ripresa economica e sociale, così come il bilancio pesante di vittime che la pandemia lascia sul suo percorso, impone tuttavia qualche riflessione sull'efficacia dei due provvedimenti di protezione personale dal contagio cui la comunità scientifica fa costante riferimento, l'utilizzo di cosiddette 'mascherine' e il cosiddetto 'distanziamento sociale'. Vogliamo qui contribuire a tale riflessione esaminando alcune implicazioni che emergono dall'approfondimento degli aspetti fluidodinamici del contagio delineato nei paragrafi precedenti.

5.1 Provvedimenti di protezione facciale

È opportuno qui premettere alcune elementari nozioni che, pur essendo note, sono necessarie a definire l'oggetto del nostro interesse.

Classificazione delle mascherine

Mascherina chirurgica (Figura 16) è un dispositivo usa e getta che aderisce in modo imperfetto al viso e ha lo scopo di **prevenire il rilascio da parte del soggetto** di sostanze inquinanti o infettive in grado di contaminare altri soggetti. Le prime mascherine agli inizi del '900 erano realizzate in garza di cotone ed erano indossate da personale medico in sala operatoria per prevenire infezioni dei pazienti, donde la denominazione. Col tempo, la loro manifattura è cambiata e il loro uso si è esteso.



Fig. 16 Mascherina chirurgica.

Le mascherine ad alta protezione (FFP) sono dispositivi di protezione disegnati per adattarsi in misura maggiore al viso del soggetto. Esse sono intese ad esercitare un'efficace azione filtrante del flusso d'aria inalato, hanno cioè la **funzione di proteggere il soggetto** dalle particelle contaminanti trasportate per via aerea. Anche i primi esempi di mascherine di questo tipo comparvero agli inizi del '900, destinati alla protezione dei minatori dall'inquinamento da polveri e gas, i soldati dalle esalazioni di armi chimiche e i vigili del fuoco da fumi e monossido di carbonio. Da molti anni esse sono largamente utilizzati per la protezione del personale ospedaliero, anche in versioni più sofisticate.

Esula dalle nostre competenze e dai nostri scopi entrare nel dettaglio delle diverse tipologie esistenti, ma è qui importante menzionare quali caratteristiche sono attribuite dagli operatori sanitari a questi dispositivi. Citiamo allora testualmente dal sito dell'università Vita e Salute- San Raffaele (<https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=ffp1+e+ffp2+differenze>):

“Le mascherine ad alta protezione (Figura 17) sono le cosiddette “FFP” (la sigla sta per “filtering facepiece particles”, “facciale filtrante delle particelle”). **Questi dispositivi proteggono sia chi li indossa, sia gli altri**, e sono **ottimali per proteggere gli operatori sanitari coinvolti direttamente nella assistenza a un paziente certamente o probabilmente infetto da SARS-CoV-2**. Sono suddivise nelle tre classi di protezione FFP1, FFP2 e FFP3 in funzione della loro efficacia filtrante. Le maschere FFP1 filtrano almeno l'80% delle particelle che si trovano nell'aria fino a dimensioni di $0,6 \mu m$; una singola particella di SARS-CoV-2 è circa 5 volte più piccola, perciò **non sono idonee per la protezione da agenti patogeni che si trasmettono per via aerea**. Le maschere FFP2 sono adatte filtrano almeno il 94% delle particelle che si trovano nell'aria fino a dimensioni di $0,6 \mu m$; le maschere FFP3 offrono la massima protezione possibile, con una capacità filtrante di almeno il 99% dalle particelle con dimensioni fino a $0,6 \mu m$.”

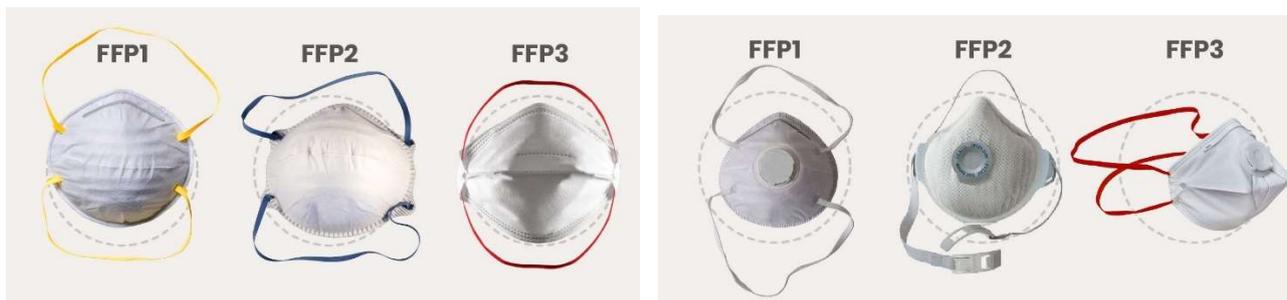


Fig. 17 Mascherine ad alta protezione senza (sx) o con (dx) valvole

E ancora: “Le mascherine FFP possono anche essere dotate di valvole (Figura 17, dx), che però **non hanno alcun effetto sulla capacità filtrante del dispositivo, ma consentono una migliore respirazione quando la mascherina è indossata per molto tempo**. La valvola di espirazione permette all’aria calda di fuoriuscire dal dispositivo, riducendo l’umidità che si forma al suo interno, evitando la formazione di condensa. Questo sistema previene l’appannamento degli occhiali e facilita la respirazione, ma attenzione: in questo modo anche le particelle virali possono fuoriuscire! Per questo, **le FFP con valvola proteggono chi le indossa, ma non gli altri.**”

Non sfuggirà che il parametro attraverso cui si misura l’efficacia di questi dispositivi è la **capacità filtrante del materiale utilizzato**, che dovrebbe essere in grado di catturare l’intero intervallo di particelle contaminanti di dimensioni da meno di un micron ad oltre $100 \mu m$ con flussi d’aria compresi fra 10 e 100 l/min . L’attenzione della ricerca si è concentrata per molto tempo sull’individuazione del materiale più adeguato allo scopo. I materiali utilizzati sono fibrosi e consistono nei cosiddetti ‘tessuti non tessuti’. La loro efficacia filtrante dipende dal diametro delle fibre, la loro porosità, il loro spessore ed eventualmente dalla loro carica elettrica. Diversi sono infatti i processi (diffusione, intercettazione, impatto e attrazione elettrostatica) che determinano il contatto (quindi l’insorgere del legame di attrazione molecolare) fra particella e fibra, attraverso cui la particella viene rimossa dal flusso d’aria. Tipicamente la dipendenza dell’efficienza del processo di rimozione dal diametro delle particelle presenta un minimo intorno ad un certo valore del diametro che definisce la dimensione delle ‘particelle più penetranti’ quelle rispetto alle quali è opportuno misurare la performance del filtro.

Le normative della Comunità Europea prevedono una **certificazione dell’efficienza** di mascherine misurata, come abbiamo visto, dalla capacità del filtro di trattenere almeno una certa percentuale delle particelle sottoposte a test. Non sembra che la normativa imponga una certificazione

dell'efficienza 'adattativa' dei vari dispositivi: la mascherina consente infatti sempre, sia in fase di espirazione che in fase di inspirazione, che **una parte del flusso d'aria bypassi il dispositivo** insinuandosi nelle fessure comprese fra il suo bordo ed il viso. Torneremo su questo punto.

Valutazioni comparative dell'efficacia di maschere chirurgiche rispetto a maschere FFP2 sulla base di dati clinici.

Le numerose valutazioni comparative fondate su dati clinici disponibili in letteratura, cui abbiamo avuto accesso, non forniscono esiti conclusivi: i risultati sono fortemente dipendenti dal tipo di virus e differiscono nelle conclusioni. Riportiamo un florilegio di tali conclusioni a supporto di quest'affermazione.

Lee et al. (2008)

*Most of the tested N95 respirators³ and surgical masks in this study were observed to perform at their worst against particles approximately between 0.04 and 0.2 μ m, which includes the sizes of coronavirus and influenza virus. The tested N95 respirators provided about **8–12 times better** protection than the surgical masks.*

Johnson et al. (2009)

*On the basis of these preliminary findings, both surgical and N95 masks appear **equally effective** in preventing influenza dissemination from patients with confirmed influenza.*

Smith et al. (2016)

*....our meta-analysis showed that there were **insufficient data** to determine definitively whether N95 respirators are superior to surgical masks in protecting health care workers against transmissible acute respiratory infections in clinical settings.*

Radonovich et al. (2019)

*Among outpatient health care personnel, N95 respirators vs medical masks as worn by participants in this trial resulted in **no significant difference** in the incidence of laboratory-confirmed influenza*

Long et al. (2020)

*The use of N95 respirators compared with surgical masks is **not associated with a lower risk** of laboratory-confirmed influenza. It suggests that N95 respirators should not be recommended for general public and non high-risk medical staff those are not in close contact with influenza patients or suspected patients.*

Bae et al. (2020)

*In conclusion, both surgical and cotton masks seem to be **ineffective in preventing the dissemination of SARS-CoV-2** from the coughs of patients with COVID-19 to the environment and external mask surface.*

Leung et al. (2020)

***Surgical face masks significantly reduced detection of influenza virus RNA in respiratory droplets and coronavirus RNA in aerosols**, with a trend toward reduced detection of coronavirus RNA in respiratory droplets. Our results indicate that surgical face masks could prevent transmission of human coronaviruses and influenza viruses from symptomatic individuals.*

L'ampiezza di quest'ultimo studio, merita una menzione particolare. Dal numero di pazienti inizialmente esaminati (3.363) sono stati selezionati 246 soggetti di cui sono state analizzate le emissioni respiratorie. Di questi 122 (124) non indossavano (indossavano) mascherine. I test

³ Si noti che la locuzione N95 si riferisce alla versione americana delle maschere FFP2.

accertavano l'emissione virale in termini di copie del virus per campione in tamponi nasali, tamponi faringei, gocce emesse con il respiro e aerosol (qui intesi come gocce di dimensioni minori) paragonando i risultati nei casi in cui il soggetto indossava o meno la mascherina. La Figura 18 riporta i risultati in forma grafica.

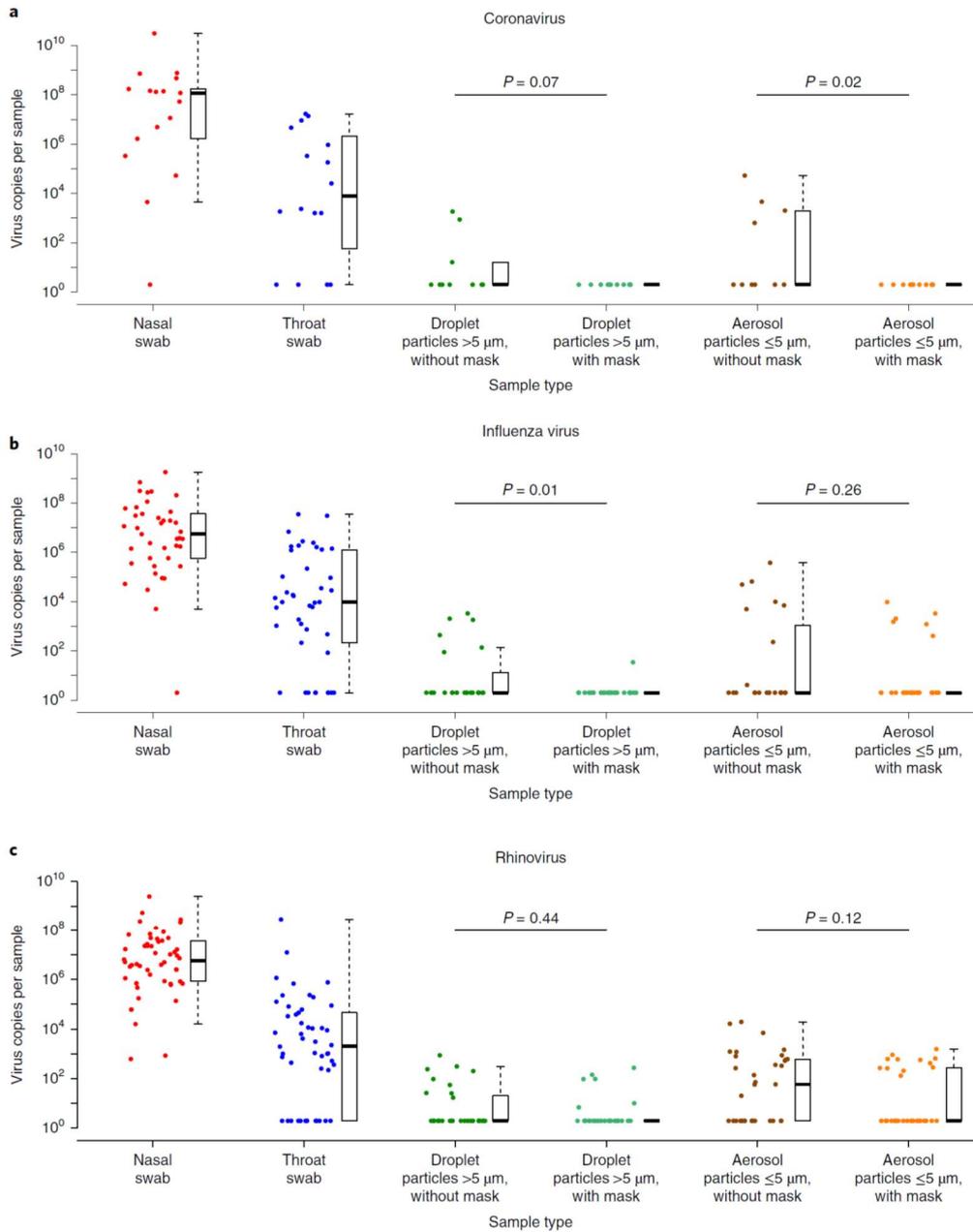


Fig. 18 Efficacia di mascherine chirurgiche nella riduzione del numero di virus respiratori emessi in gocce di taglie diverse di soggetti sintomatici affetti da coronavirus (a), influenza (b) o rinovirus (c). La Figura riporta il numero di copie per campione, raccolto attraverso tamponi nasali (rosso), tamponi faringei (blu), gocce respiratorie ($d > 5 \mu\text{m}$) raccolte per 30 min da soggetti che non indossavano (verde scuro) o indossavano (verde chiaro) una mascherina chirurgica, e particelle più piccole ($d < 5 \mu\text{m}$) raccolte per 30 min (marrone senza maschera, arancione con maschera) (riprodotto da Leung *et al.*, 2020).

I risultati evidenziano chiaramente che l'efficacia dell'indossare una mascherina chirurgica dipende fortemente dalle dimensioni della particella infetta e dal tipo di virus (efficace per coronavirus, poco efficace per rhinovirus in gocce di dimensioni $< 5 \mu m$, efficace per l'influenza in gocce di dimensioni $> 5 \mu m$).

Valutazione dell'efficacia dei dispositivi di protezione attraverso la visualizzazione del flusso respiratorio.

Recentemente (Tang *et al.*, 2009), l'utilizzo di raffinati strumenti di visualizzazione dell'aria con il suo carico di goccioline è stato esteso all'analisi di soggetti che indossavano mascherine. L'importanza di questi contributi è legata al fatto che essi consentono di esaminare la reale efficacia dei diversi dispositivi tenendo conto di un aspetto in genere trascurato (perché difficilmente controllabile): il migliore o peggiore adattamento della maschera alla forma del viso. La sperimentazione faceva uso della tecnica di visualizzazione di Schlieren, insieme ad una registrazione video ad alta risoluzione della sequenza di immagini e ad un velocimetro PIV. I risultati sono di particolare interesse.

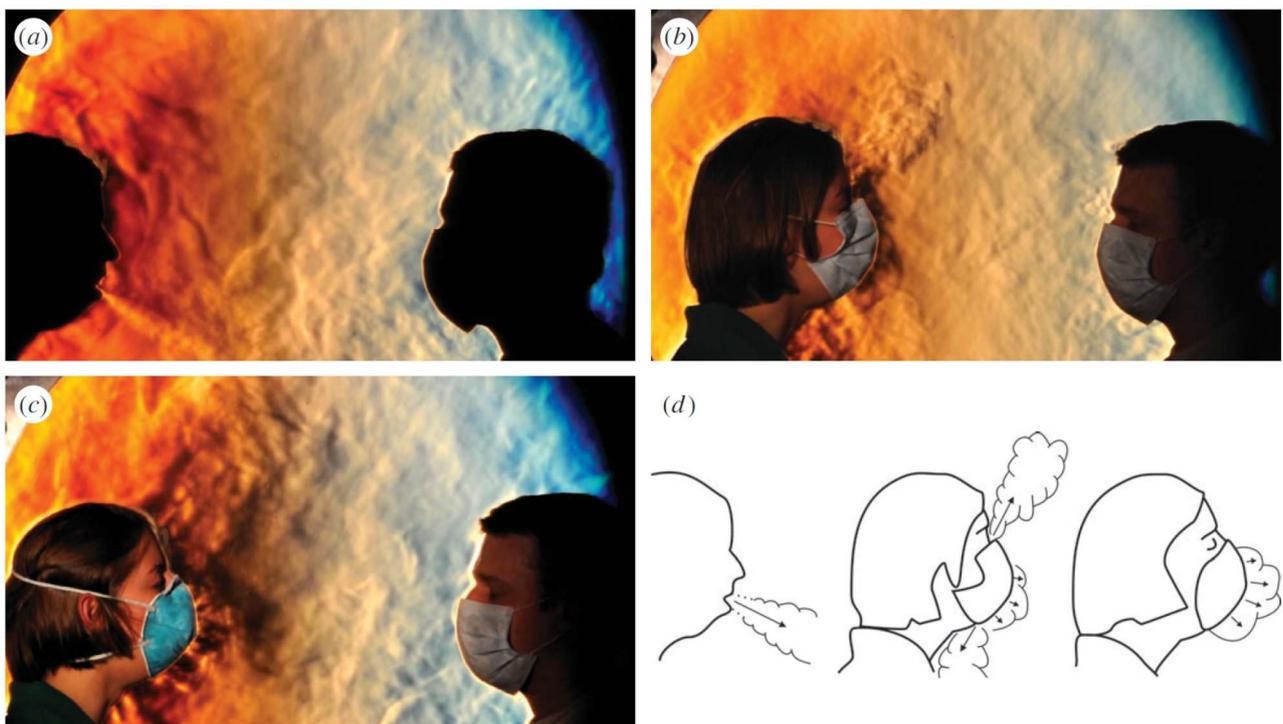


Fig. 19 Immagini Schlieren di due volontari. Quello di sinistra emette un colpo di tosse senza indossare una mascherina (a), indossando una chirurgica (b) ed infine una FFP2 (c). La direzione del flusso è a 308° verso il basso in (a); il flusso ha componenti verticali, verso l'alto e il basso, e laterali che bypassano la chirurgica in (b); il miglior adattamento della FFP2 riduce il bypass ma accresce il flusso espulso attraverso la mascherina, ma la sua bassa velocità ne limita il raggio di influenza alle immediate vicinanze del soggetto (riprodotto da Tang *et al.*, 2009) .

La Figura 19 illustra la visualizzazione laterale di due volontari, uno dei quali emette un colpo di tosse. In (a) l'assenza della protezione facciale fa sì che il flusso, di poco inclinato verso il basso rispetto all'orizzontale, si estenda attraverso la regione interessata dall'immagine verso il secondo volontario. La protezione di una chirurgica blocca il flusso anteriore (b) e lo ridirige verso i bordi

della mascherina dove s'insinua, allargandolo, nel gap maschera-viso. Il migliore adattamento di una FFP2 alla forma del viso fa sì che il volume emesso accresca la sua pressione determinando un flusso filtrante anteriore maggiore (c) e riducendo la componente che bypassa la maschera. Inoltre, la bassa velocità con cui l'aria emerge dalla maschera fa sì che essa venga catturata dal debole plume termico umano (Li *et al.*, 2018), cioè dalla modesta corrente ascensionale indotta dalla maggiore temperatura del soggetto rispetto all'aria dell'ambiente (funzionamento 'a calorifero').

Lo studio di Tang *et al.* (2009) è stato recentemente esteso da Viola *et al.* (2020), che hanno confermato le precedenti osservazioni, quantificando velocità e direzione dei flussi, e inoltre, hanno considerato anche il caso della respirazione normale o intensa, quest'ultima per simulare l'esercizio fisico. Infine, sono stati analizzati sette diversi dispositivi di protezione, incluse una mascherina chirurgica ed una FFP2.

I risultati possono essere così riassunti:

- Il flusso generato in assenza di dispositivi di protezione ha caratteristiche analoghe a quelle osservate da Tang *et al.* (2009) e Borouiba *et al.* (2014);
- Il flusso determinato da colpi di tosse risulta attenuato di un fattore maggiore del 63 % da **mascherine FFP1 e FFP2** e non raggiunge anteriormente distanze superiori a ½ metro e ¼ metro, rispettivamente; se la mascherina non è perfettamente aderente, si determinano flussi che la bypassano in diverse direzioni, ma deviano verso l'alto spostandosi poco in direzione orizzontale;
- al contrario, **mascherine chirurgiche** e mascherine fatte in casa generano flussi di bypass che hanno la potenzialità disperdere le goccioline infettate a diversi metri di distanza in diverse direzioni, inclusa la direzione opposta a quella del flusso principale: tale fenomeno si presenta sia nel caso di respirazione intensa che nel caso di colpi di tosse.

La conclusione principale di questo studio è che l'efficacia complessiva dei dispositivi di protezione dovrebbe essere commisurata anche alla generazione dei flussi secondari dovuti alla loro insufficiente aderenza al viso e non solo alla loro capacità di attenuare il flusso filtrante che attraversa anteriormente la mascherina.

Resta tuttavia il ruolo indubbiamente importante delle mascherine nell'intercettare la maggior parte della carica batterica, come dimostrato dall'esperienza chirurgica. Quest'ultima affermazione sembra confortata dalla recentissima ricognizione di dati e metadati, finanziata dalla OMS e finalizzata ad una valutazione della distanza interpersonale necessaria per evitare infezioni da persona a persona (Chu *et al.*, 2020), in presenza o in assenza di protezioni personali (mascherine e occhiali protettivi). La conclusione principale, per quanto di pertinenza del presente Rapporto, riguarda il caso di 2647 osservazioni empiriche da cui risulta che il distanziamento sociale, insieme all'uso delle mascherine e di protezione degli occhi, può determinare una significativa riduzione del rischio di infezione. Ciò, in particolare, per mascherine della classe N95, la versione equivalente alle FFP2 (cfr. 5.1), rispetto a ordinarie mascherine chirurgiche. La protezione degli occhi risulta meno incisiva rispetto al rischio di infezione da SARS-CoV-2 anche se è acclarato che produce marginali benefici, in sintonia con le conclusioni di studi empirici più qualitativi.

Chu *et al.* (2020) suggeriscono cautela nell'adozione dei loro risultati, raccomandando la necessità di una adatta serie di *trials* randomizzati per verificarne formalmente la validità. Pur se nel loro studio gli autori hanno adottato significative precauzioni per evitare rischi di errori sistematici (*bias*)

per studi comparativi non randomizzati, le loro conclusioni appaiono generalizzabili anche perché piuttosto scontate. In particolare, il metodo Bayesiano con cui sono randomizzati i risultati del metastudio, e controllati i rischi di risultati spuri nelle metaregressioni, appare robusto rispetto alle conclusioni del lavoro perché piuttosto generiche. I risultati salienti sono sintetizzati dal grafico di Figura 20, in cui è riportato il rischio assoluto di infezione (il maggiore fra i *pooling risk ratios* e gli *adjusted odds ratios* in Chu *et al.*, 2020), al variare della distanza infetto-suscettibile, fino a un massimo di 3 m (peraltro mai sperimentato, quanto piuttosto estrapolato dalla randomizzazione della meta-analisi) per diverse condizioni di riferimento (*baseline risk*). Per quanto riguarda l'uso di mascherine N95 o assimilabili, il loro uso da esposti al contagio determina una riduzione nel rischio di infezione, giudicata corrispondente al passaggio dalla curva *high baseline* a quella *intermediate baseline for infection*. Infine, le analisi comparative di Chu *et al.* (2020) segnalano un significativo effetto quanto a efficacia tra N95 e altri tipi di mascherina (ma si veda Bartoszko, Farooqi, Alhazzani e Loeb (2020) per risultati di segno opposto basati di 4 *randomized trials*).

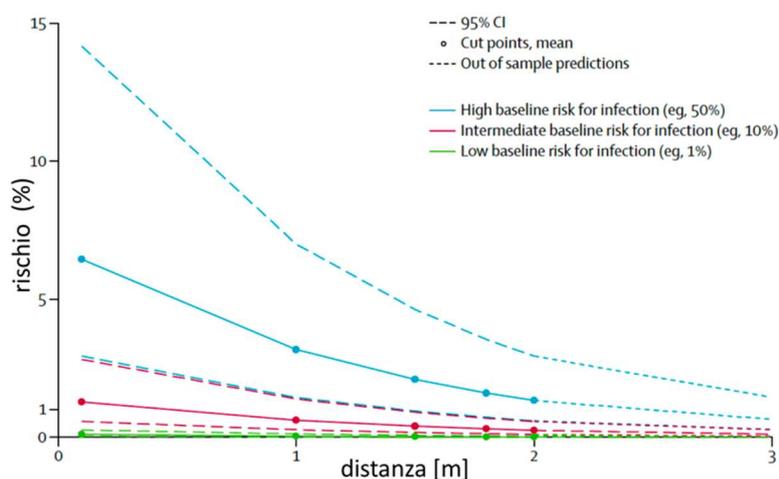


Fig. 20 Variazione del rischio assoluto di infezione da SARS-CoV-2 e SARS-CoV con la distanza interpersonale fra suscettibili e infetti, per assegnati gradi di rischio (*baseline risk*). Il passaggio da una condizione di elevato rischio (*high baseline risk*) a una intermedia corrisponde all'uso di mascherine N95 o assimilabili (Chu *et al.*, 2020).

5.2 Fluidinamica del distanziamento sociale

Chiudiamo questa nostra riflessione sui provvedimenti di protezione dal contagio con un cenno alla nota questione del distanziamento sociale.

Essa nasce dalle linee guida emanate dalla OMS per la protezione degli operatori sanitari (WHO, 2020), in cui si legge: “*Staff should be trained to protect themselves by maintaining a distance of at least 1 metre between themselves and travellers, at all times, (“social distancing”). Staff should also encourage travellers to maintain a more than 1 metre distance between themselves while waiting to cross the point of entry, including when completing entry forms.*” L'implicita ipotesi è che la distanza di un metro assicuri la protezione dall'infezione associata alla dispersione delle gocce infette per via aerea.

Lo stato dell'arte delle conoscenze che abbiamo criticamente passato in rassegna in questo rapporto non fornisce alcun supporto scientifico a questa norma. Conclusioni simili emergono da uno studio recente (Bahl *et al.*, 2020), che ha esaminato la letteratura esistente. Come illustra la Figura 21, i modelli numerici e le osservazioni sperimentali dei contributi ritenuti più significativi, forniscono un ampio spettro di previsioni per la distanza raggiunta dalle emissioni respiratorie, che eccedono invariabilmente il metro previsto dalle linee guida.

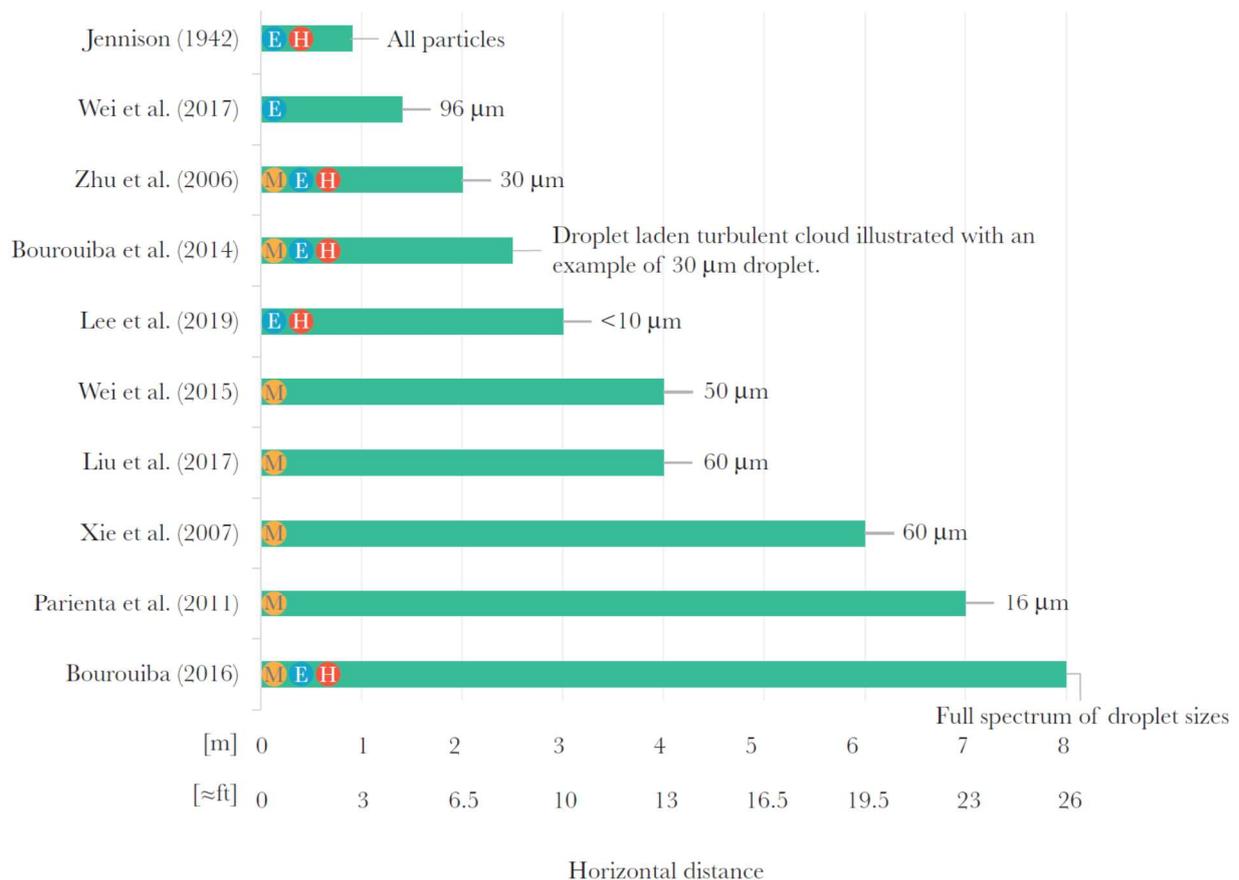


Fig. 21 Previsioni della distanza raggiunta dalle emissioni respiratorie, sulla base di modelli matematici o numerici (M), osservazioni sperimentali (E) o sperimentazione su pazienti (H): (riprodotto da Bahl *et al.*, 2020)

Appare quindi del tutto condivisibile la conclusione dello studio:

“We note that although the studies used very different methodologies and should be interpreted cautiously, they still confirm that the spatial separation limit of 1 meter (≈3 feet) prescribed for droplet precautions, and associated recommendations for staff at ports of entry [WHO, 2020], are not based on current scientific evidence”,

sia quando raccomanda cautela nell'adottare le conclusioni di studi i cui fondamenti teorici non sono sempre del tutto condivisibili, come abbiamo notato in questo rapporto, sia quando sottolinea l'assenza di basi scientifiche della norma adottata dalla OMS.

Ciononostante è indubbio che la probabilità di contagio diminuisca con la distanza. Una stima quantitativa di tale diminuzione è fornita dalla Fig. 20. Essa mostra che, in assenza di protezioni facciali il rischio all'incirca si dimezza a distanza di 1 m e si mantiene apprezzabile anche a distanza

di 2 m. Una riduzione forte del rischio, se la distanza non è di molti metri, si ottiene invece attraverso l'adozione di protezioni facciali. Pertanto il distanziamento sociale nella misura minima prevista dalla OMS rimane strumento necessario e importante per la riduzione dell'epidemia, ma non sufficiente.

6. Implicazioni per lo sviluppo di modelli epidemiologici

Nel contesto delle cosiddette misure non farmacologiche di contenimento dei contagi, un ruolo speciale spetta alle misure di larga scala di distanziamento sociale inclusive di: equipaggiamento per la protezione personale (World Health Organization, 2020); chiusura temporanea di scuole e Università; bandi di eventi pubblici o assembramenti anche di massa. Tali misure sono evidentemente legate al tema della biofluidodinamica del contagio, e i temi aperti riguardano la connessione fra i meccanismi fondamentali del trasporto e della sopravvivenza di adeguate cariche virali e gli schemi macroscopici che descrivono la forza dell'infezione a livello di comunità – i modelli epidemiologici di qualunque ordine e grado (Anderson e May, 2008).

Il processo di infezione COVID-19 viene rappresentato, con diverse varianti, a partire da modelli a compartimenti (sistemi di equazioni differenziali ordinarie accoppiate) gerarchici e Bayesiani. In generale, la dinamica del sistema dipende dal tasso d'infezione $[1/T]$ con cui suscettibili alla malattia diventano infetti (sintomatici, pre-sintomatici, o asintomatici) dopo un tempo di latenza generato dalla esposizione al contagio. Il tasso d'infezione λ (talora chiamato *forza dell'infezione*) è in generale il prodotto del *numero di contatti per unità di tempo* c $[1/T]$ fra suscettibili e infetti, e della probabilità di trasmissione per ciascun contatto, β , il parametro in cui si concentrano gli effetti della bio-fluidodinamica del contagio discussi in questo rapporto (e.g. Lipsitch *et al.*, 2003, Tang *et al.*, 2020).

I modelli attuali possono essere predittivi per quanto concerne il numero di contatti per unità di tempo c ma non per quanto riguarda la probabilità di trasmissione per ciascun contatto β .

Infatti, a c sono ascrivibili tutti i processi di larga scala deputati alla mobilità umana e al contenimento delle infezioni. A titolo di esempio: determinazioni malcerte di λ con metodi Bayesiani sono state ottenute stimando i suoi valori, con un calcolo epidemiologico a ritroso a partire e.g. da decessi attribuiti a COVID-19 (Flaxman *et al.*, 2020). In questo modo è possibile identificare il ruolo dei meccanismi di trasmissione che erano in atto nelle settimane precedenti la morte del paziente. Allo stesso modo sono deducibili indirettamente le sostanziali infezioni asintomatiche non documentate che facilitano la rapida diffusione del coronavirus SARS-CoV2 (Li *et al.* 2020). Schemi a ritroso sono di uso comune anche per determinare il tasso effettivo, R_t , di riproduzione delle infezioni, considerando retrospettivamente la distribuzione dei ritardi tra manifestazione dei sintomi e decesso. È tema di grande attualità e interesse il tracciamento

empirico della mobilità umana su grandi numeri con strumenti informatici e di calcolo tecnologicamente avanzati, ad esempio basati sul tracciamento con telefonia mobile dei contatti di infetti sintomatici (e.g. Chinazzi *et al.*, 2020; Ferretti *et al.*, 2020; Pepe *et al.*, 2020).

È invece problema aperto di grande interesse e rilevanza, quello di ottenere previsioni *ex ante* delle distribuzioni della probabilità di trasmissione β per ciascun contatto in funzione della natura e della gravità dei sintomi dell'infetto e dunque delle condizioni che determinano: la distribuzione dei contatti vicini o lontani (cfr 3.2); e le caratteristiche delle particelle emesse nelle funzioni respiratorie (cfr 4).

Evidenza sperimentale ed empirica sulla progressione di COVID-19 con riferimento al carico virale delle varietà di infetti potrebbe utilmente definire un'importante condizione al contorno dei modelli delle emissioni. Uno studio empirico rilevante ha fornito profili temporali del carico virale in campioni di saliva orofaringea di pazienti infetti da SARS-CoV-2 (To *et al.*, 2020). È notevole il risultato della limitata inferenza di altre sindromi acute respiratorie conosciute, che induce prudenza nella formulazione di ipotesi utili a previsioni o scenari: infatti, pur nella limitata evidenza sinora disponibile, COVID-19 sembra mostrare sempre il massimo del carico virale all'esordio, giustificando così la rapidità della diffusione dell'epidemia. Dunque un parametro per la determinazione del valore della distribuzione di β potrebbe essere la percentuale delle età dell'infezione negli agenti che emettono le gocce di saliva veicolate dalla bocca all'ambiente circostante insieme a un volume d'aria saturo. Tale percentuale potrebbe essere calcolata dai modelli compartimentali e configurare una specie di metodo *predictor-corrector* di determinazione del tasso effettivo di trasmissione. È anche utile osservare che campioni di questo tipo non sono invasivi e risultano accettabili da pazienti e personale sanitario o gruppi a rischio (e.g. ospiti di RSA), naturali attrattori di sistematiche rilevazioni. Altri studi in campioni presi dalle alte vie respiratorie di pazienti infetti nel naso e nella bocca (Zou *et al.*, 2020) documentano il ciclo del carico virale dall'esordio alla remissione, fornendo un primo schema delle condizioni al contorno per un modello di emissione (cfr 3 e 4) (Figura 22). È rilevante l'osservazione lì contenuta che il carico virale misurato in pazienti asintomatici risulta simile a quello di pazienti con sintomi gravi, suggerendo il grande potenziale contributo alla trasmissione dell'epidemia da parte di pazienti poco o per nulla sintomatici, che dovrà trovare spiegazione nell'identificazione certa dei meccanismi fluidodinamici di trasmissione.

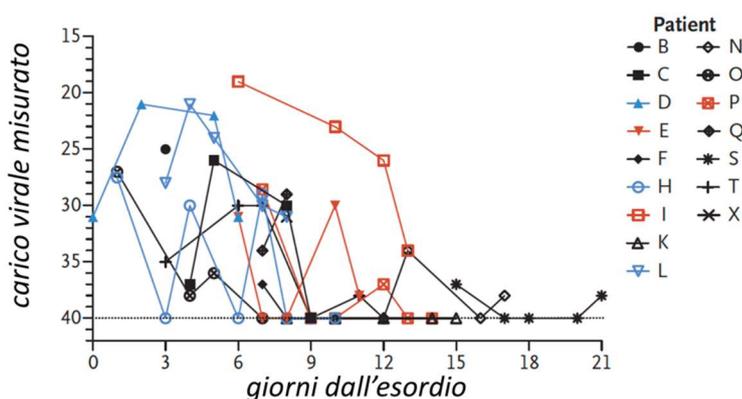


Fig. 22 Esempio di misura diretta del ciclo del carico virale da tamponi del cavo nasale di pazienti positivi, espressi in unità di misura specifiche del sistema di test con RT-PCR (Zou *et al.*, 2020).

Infine, la probabilità di trasmissione deve descrivere eventuali fenomeni di stagionalità nella trasmissione, talora assunti in analogia a quelli documentati per altri coronavirus (Kissler *et al.*, 2020). Si tratta di fenomeni rilevanti anche la bio-fluidodinamica dei processi che si verificano in corrispondenza dell'interfaccia goccia-aria in diverse condizioni climatiche (3.3). Va notato che l'effettiva carica virale trasmessa con l'infezione, che ha un significativo impatto sul decorso e sull'esito della malattia (Cyranski, 2020), è determinata dalla condizione al contorno (la concentrazione iniziale dell'emissione, una funzione a oggi ignota della carica virale del tipo di quella illustrata in Figura 6) e dalla biofluidodinamica del processo di diffusione delle gocce grandi e piccole (cfr 3). La relazione fra la carica infettiva effettivamente trasmessa e la probabilità di contagio per singolo contatto rimane un problema aperto, potenzialmente affatto diverso da quello delle soglie tossicologiche che fissano un valore al disotto del quale l'effetto non si verifica. Se la soglia di infezione da SARS-CoV-2 non fosse *dose-dependent* come per molte malattie micro- e macro-parasitiche (Anderson e May, 2008), il problema della diluizione e delle opportunità di diffusione del virus andrebbero rivisitati con il progresso delle evidenze empiriche e sperimentali (in analogia con i citati problemi di stagionalità e durata dell'immunità acquisita).

7. Discussione e conclusioni

Emergono dal quadro delineato una serie di questioni aperte. Di queste una appare dirimente in quanto essa condiziona fortemente la capacità di fare fondate previsioni sulla trasmissione del contagio nelle diverse possibili condizioni esaminate in questo rapporto.

Questione aperta 1:

Una gocciolina infetta che subisce evaporazione o si riduce addirittura al suo nucleo secco si mantiene infettiva?

Questa questione è strettamente legata al problema della sopravvivenza dei virus in ambienti con diversa umidità relativa, di cui abbiamo detto al punto 3.1. Data la rilevanza del problema e l'attenzione che ha ricevuto per decenni, appare sorprendente che sui meccanismi fondamentali che determinano la capacità di sopravvivenza dei virus non sembra esista una scienza condivisa. L'ipotesi avanzata nel rapporto dell'OMS (Sobsey e Meschke, 2003) secondo cui, in generale, i virus rivestiti, che contengono una membrana lipidica, sopravviverebbero meglio alle basse umidità relative, mentre quelli non rivestiti preferirebbero ambienti più umidi, ha infatti numerosi controesempi. Ciò è stato sottolineato da Yang e Marr (2012), che hanno analizzato evidenze e limiti di numerose ipotesi avanzate per interpretare la correlazione sopravvivenza-umidità relativa: fra le altre, la rimozione di molecole d'acqua dal pericapside porterebbe alla disattivazione del virus, virus che si dividono sulla superficie di aerosol potrebbero subire danneggiamenti indotti dalla tensione superficiale o da tensioni tangenziali, i sali disciolti avrebbero effetti tossici che si accentuerebbero al crescere della loro concentrazione per effetto dell'evaporazione, variazioni nel pH dell'aerosol indotti dall'evaporazione potrebbero dar luogo a variazioni conformazionali delle glicoproteine superficiali presenti nei virus rivestiti compromettendone il carattere infettivo. Il quadro rimane

incerto e chiarirlo accertando ruolo e rilevanza dei diversi meccanismi rappresenta una delle sfide per una ricerca che dovrà essere squisitamente interdisciplinare.

La questione aperta 1 conduce immediatamente, in cascata, all'esigenza di dar risposta alle numerose altre questioni aperte emerse chiaramente in questo rapporto.

Questione aperta 2:

E' possibile associare una distribuzione di probabilità alle dimensioni delle particelle liquide contenute nel flusso bifase espulso con le diverse tipologie di emissioni respiratorie?

La grande incertezza emersa al punto 4.1 (vedi anche l'Appendice) è certamente in parte dovuta alla diversa raffinatezza degli strumenti di misura utilizzati dai diversi Autori. Ma questa è solo parte della spiegazione, e non la più importante. Le visualizzazioni di Scharfman *et al.* (2016) hanno suggerito che, almeno nel caso delle emissioni più violente, l'ipotesi che il flusso bifase consista fin dall'inizio in una dispersione di goccioline in una corrente di aria umida non è del tutto corretta: le goccioline si formano a partire da strutture liquide più complesse attraverso meccanismi di frammentazione la cui modellazione rappresenta un problema aperto della ricerca.

Abbiamo visto al punto 4.3 che questo problema è collegato ad una terza questione.

Questione aperta 3:

Come si forma la miscela bifase emessa?

Lo stato delle conoscenze su questo aspetto è del tutto embrionale, si limita cioè all'individuazione di possibili meccanismi di instabilità dell'interfaccia aria-muco nell'apparato respiratorio. Gli esiti non lineari di queste instabilità sono del tutto non chiariti e pongono problemi di fluidodinamica numerica di frontiera per la simulazione della frammentazione del flusso liquido in strutture da cui emerge la formazione delle goccioline.

Questione aperta 4

Come evolve il getto-puff nel campo vicino e in quello lontano, in presenza e in assenza di circolazioni secondarie indotte dalla ventilazione, naturale o forzata?

I progressi ottenuti recentemente nella visualizzazione della nuvola attraverso l'utilizzo di tecniche di visualizzazione avanzate (vedi punto 4.2) aspettano di essere interpretate sulla base di modelli di turbolenza adeguati, in grado di simulare l'evoluzione dei campi di velocità, temperatura e umidità relativa, la sedimentazione delle particelle e la loro evaporazione, come discusso al punto 4.4. È solo con la disponibilità di questi modelli, insieme alla risoluzione della questione 1, che potrà emergere un quadro chiaro della meccanica della trasmissione del contagio e, quindi, della sua possibile prevenzione. Accertando, inoltre, in che misura la ventilazione forzata può rappresentare un effettivo ulteriore pericolo per la diffusione del contagio, anche attraverso l'eventuale contaminazione dei condotti di aerazione. Si noti, a questo proposito, che tracce significative di RNA

virale sono state trovate sulle grate delle bocche di aerazione in un ospedale del Nebraska che ospitava ammalati di SARS-CoV-2 (Santarpia *et al.*, 2020).

Questione aperta 5

Quali indicazioni certe possiamo offrire al mondo politico sull'efficacia dei provvedimenti di protezione dal contagio?

La breve rassegna che abbiamo delineato al punto 5 pone evidenti problemi di rivisitazione dei criteri che sottendono l'accertamento dell'efficacia dei diversi strumenti comunemente adottati. Emerge chiaramente che il distanziamento sociale, nella versione comunemente intesa, richiede, per essere realmente efficace, la contemporanea utilizzazione di strumenti di protezione facciale che riducano in misura apprezzabile il raggio d'azione delle emissioni respiratorie. Inoltre le protezioni facciali devono essere mantenute, piuttosto che essere rimosse, quando si parla perché in questo caso le emissioni aumentano, come evidenziato al punto 4.2, e il dialogo è spesso un'occasione di interazione a breve distanza con asintomatici. In assenza di strumenti di protezione facciale, le conoscenze attuali, mentre suggeriscono l'insufficienza dell'attuale criterio, non consentono tuttavia ancora di fornire indicazioni costruttive adeguate per un suo ripensamento, e richiedono il supporto della soluzione dei problemi aperti enunciati in precedenza.

Questione aperta 6

Quale verifica teorica e sperimentale può consentire una definizione predittiva della probabilità di contagio per ogni singolo contatto?

La sintesi necessaria in questo documento consente solo poco più che un elenco dei problemi aperti in questo campo, a partire da misure della distribuzione degli effettivi distanziamenti in ogni contatto, da distribuzioni del carico virale in soggetti infetti e da considerazioni bio-fluidodinamiche sulla emissione e trasporto di patogeni. Appare chiaro che lo stato attuale delle conoscenze può consentire misure e modelli verosimili della probabilità di contatto fra suscettibili e infetti nelle più diverse condizioni, ma non della probabilità di infezione per ogni singolo contatto. Insieme, questi fattori determinano la base per la determinazione della forza dell'infezione.

Appendice

Breve rassegna dei risultati delle misure di distribuzioni granulometriche delle goccioline espulse in diverse tipologie di emissione respiratoria

Le prime misure documentate in letteratura risalgono ai lavori di Wells (1934) e Duguid (1945, 1946). La tecnica di misura utilizzata in questi lavori consisteva nel raccogliere su lastre di vetro o plexiglass localizzate di fronte alla bocca del soggetto l'impronta lasciata dallo spray di goccioline emesse attraverso espulsioni sia violente (**tosse e starnuti**) che ordinarie (**vocali**). Le immagini venivano quindi analizzate al microscopio correlandone empiricamente le dimensioni con quelle delle gocce originarie. Per la frazione più fine, quella dei nuclei (intorno a 1-2 μm) veniva utilizzato un campionatore a fessura. Alternativamente, in Jennison (1942) si contavano le immagini delle gocce, fotografate su campo scuro ad alta velocità e ingrandite. Duguid (1946) concludeva che **il 95% (97%) dei diametri delle gocce (nuclei) ricadrebbero nel range 2-100 μm (0.5-12 μm) con picchi intorno a 2-8 μm (1-2 μm). E le distribuzioni granulometriche non differivano apprezzabilmente nei casi di emissioni violente o ordinarie.** Risultati qualitativamente simili sono stati ottenuti recentemente (Xie *et al.*, 2009) utilizzando una tecnica analoga per la misura del diametro delle gocce e uno spettrometro per i nuclei. Il diametro misurato delle gocce veniva correlato a quello delle gocce espulse calcolando il 'tempo di residenza' (tempo richiesto dalla goccia per raggiungere la lastra di raccolta) assunto pari al tempo di sedimentazione della goccia su una distanza verticale pari alla differenza fra la quota di emissione e la quota dell'impronta rilevata. La variazione del diametro della goccia veniva quindi calcolata sulla base del modello di evaporazione proposto da Xie *et al.* (2007) e discusso al punto 2.

Papinen e Rosenthal (1997) hanno utilizzato una tecnica che combinava la microscopia elettronica per l'identificazione delle gocce e il conteggio ottico, con un range di misura intorno a 0.3-10 μm . E, in contrasto con studi precedenti, concludevano che **80-90 % delle particelle espulse nelle funzioni respiratorie avrebbero dimensioni inferiori a 1 μm .** Inoltre, la concentrazione di particelle dipendeva dalla tipologia di emissione, con massimi associati alla **tosse** e minimi alla **normale respirazione**. Uno dei limiti di queste misure (rilevato da Morawska *et al.*, 2009) consisteva nell'incerta relazione fra le dimensioni delle gocce rilevate e quelle delle gocce originarie. Prima della loro identificazione strumentale, le gocce restavano, infatti, in aria per un tempo sufficiente a subire il processo di evaporazione, che fa sospettare che le dimensioni misurate si riferissero in realtà ai nuclei residui delle gocce che avevano subito il processo di evaporazione.

Yang *et al.* (2007), Morawska *et al.* (2009) e Johnson *et al.* (2011) hanno utilizzato un campionatore di particelle aerodinamico (APS, range 0.5-20 μm) per le misure del diametro e della concentrazione. Yang *et al.* (2007) hanno esaminato emissioni prodotte da eventi di **tosse**, tentando anche di distinguere fra le dimensioni delle gocce espulse e quelle dei nuclei residui. Le prime venivano misurate dopo aver raccolto il fluido emesso in una sacca. Per le seconde veniva utilizzato uno spettrometro SMPS (scanning mobility particle sizer, 1 nm - 1 μm). I risultati mostravano una distribuzione tri-modale delle dimensioni delle goccioline, con valori racchiusi nell'intervallo 0.62–15.9 μm e valor medio intorno a 8.35 μm . Per i nuclei, l'intervallo corrispondente era di 0.58–5.42 μm . I risultati di Morawska *et al.* (2009) confermavano solo alcune delle osservazioni di Papinen e Rosenthal (1997). In particolare, la dimensione di gran parte delle gocce risultava molto piccola, nel range 0.1-1 μm . Inoltre, la concentrazione di particelle dipendeva dalla tipologia di emissione, con massimi associati alla **tosse** e minimi alla **normale respirazione**. Infine, l'**emissione vocale** emetteva un numero di particelle di un ordine di grandezza superiore alla semplice respirazione e fortemente dipendente dall'ampiezza del suono emesso. Tuttavia, **le concentrazioni di particelle rilevate da Morawska *et al.* (2009) risultavano di oltre un ordine di grandezza maggiori rispetto a quelle di Papinen e Rosenthal (1997) e di tre ordini di grandezza minori rispetto a quelle di Yang *et al.* (2007)! Un risultato che conferma l'estrema delicatezza della misura e la sua dipendenza dalla tecnica adottata.** Questa importante questione è analizzata da Morawska *et al.* (2009) attraverso una critica dei lavori precedenti. Misurando anche il tempo intercorso fra l'inizio dell'emissione respiratoria e l'effettiva misura del diametro della singola particella questi AA inferivano che, all'atto della loro misura, le gocce avevano raggiunto il diametro di equilibrio conseguente al processo di evaporazione. Questi risultati sono stati ulteriormente sviluppati da Johnson *et al.* (2011), che hanno utilizzato, oltre all'APS, un DDA (Droplet Deposition Analysis) strumento adatto a dimensioni delle gocce maggiori (> 20 μm). Ciò ha consentito di evidenziare il carattere trimodale della

distribuzione delle particelle emesse, con modi centrati su diametri pari a 1.6, 2.5 e 145 μm (o 1.6, 1.7 e 123 μm) nel caso di **emissione vocale** (o **tosse**). Johnson *et al.* (2011) hanno ipotizzato che i tre modi sarebbero associati a particelle aventi origine in regioni distinte dell'apparato respiratorio, i bronchioli, la laringe e la cavità orale, rispettivamente.

Attenzione alla necessità di effettuare la misura molto vicino alla bocca del soggetto, in modo da evitare gli effetti di evaporazione delle gocce e diluizione del getto, è stata posta da Chao *et al.* (2009)- A tale scopo, essi hanno adottato una tecnica di misura interferometrica (*Interferometric Mie Imaging, IMI*) che determina la dimensione delle particelle misurando la distanza fra le frange di interferenza prodotte da luce coerente che interagisce con le particelle. Il metodo è appropriato per gocce sferiche trasparenti. Il suo vantaggio è quello di consentire misure non invasive in prossimità della bocca del soggetto. Chao *et al.* (2009) hanno anche effettuato misure di velocità del getto con l'ausilio della PIV (*Particle Image Velocimetry*). I risultati delle misure mostrano che:

- (i) la **velocità media di espirazione era di 11.7 m/s (tosse) e 3.9 m/s (emissioni vocali)**;
- (ii) **i diametri medi delle gocce espulse erano pari a 13.5 μm (tosse) e 16 μm (emissione vocale)**;
- (iii) Il numero totale di gocce espulse cadeva nell'intervallo 947 - 2085 (tosse) e 112–6720 (emissione vocale)
- (iv) l'effetto di evaporazione delle gocce veniva stimato e si rivelava trascurabile.

Misure non invasive (fondate sulla tecnica di diffrazione laser) sono state effettuate anche da Zayas *et al.* (2012) e Han *et al.* (2013). Zayas *et al.* (2012) motivano la loro ricerca sottolineando l'esigenza di costruire un modello complessivo del processo di produzione di aerosol associato alla **tosse**, modello che ritengono necessario allo scopo di individuare strumenti di controllo del contagio attraverso un controllo della produzione di aerosol alla sorgente. La tosse rappresenta infatti uno degli strumenti principali di rimozione del muco che si accumula lungo le pareti delle vie respiratorie, che viene mobilizzato dal flusso ad alta velocità generato nella fase espulsiva. La tecnica di misura era in grado di rilevare la concentrazione di gocce di dimensioni comprese fra 0.1 e 900 μm ogni 0.4 millisecondi, assumendo che le gocce siano perfettamente sferiche. I risultati (Figura A1) suggeriscono che **gocce di diametro inferiori al micron rappresentavano il 97% del numero totale di gocce contenute nel flusso emesso da ogni evento di tosse.**

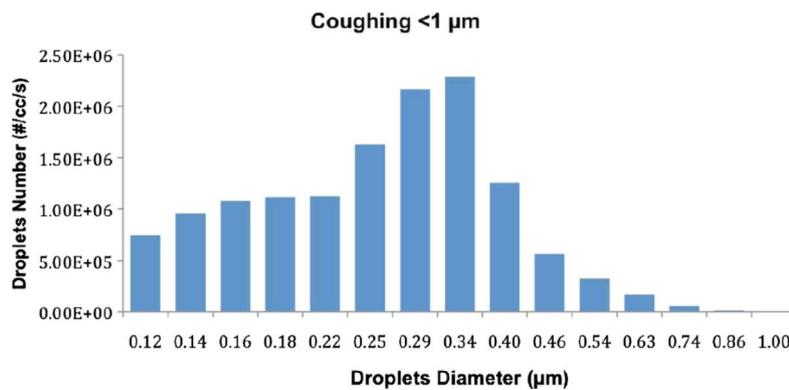
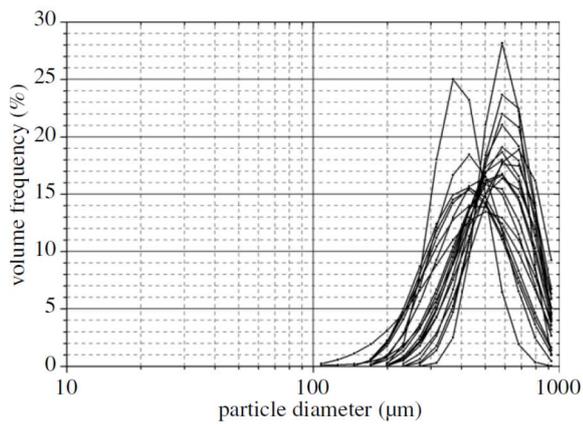
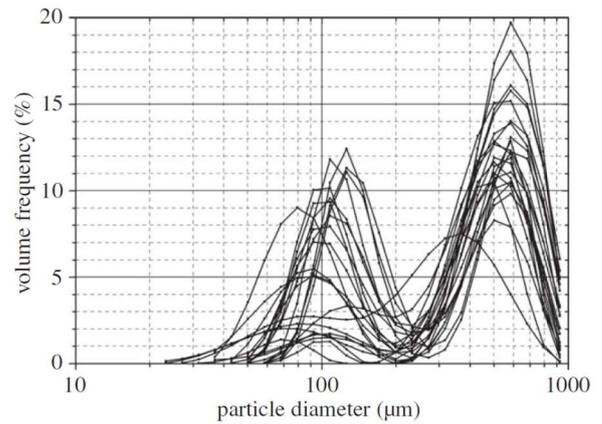


Fig. A1 Distribuzione granulometrica delle gocce emesse attraverso emissioni da tosse (riprodotto da Zayas *et al.*, 2012)

Han *et al.* (2013) hanno invece concentrato la loro attenzione su eventi respiratori più violenti, quelli associati all'emissione di **starnuti**. E il quadro dei risultati cambia ancora. La prima osservazione riguarda il carattere della distribuzione della dimensione delle gocce emesse.



(a)



(b)

Fig. A2 Distribuzioni unimodali (a) e bimodali (b) dei volumi di gocce rilevate sulle emissioni di starnuti di 23 pazienti (riprodotto da Han *et al.* (2013)).

Essa si rivelava **unimodale** (Figura A2a) nel caso di 12 pazienti, **bimodale** nel caso di 10 altri pazienti (Figura A2bb), mentre negli ultimi tre pazienti erano presenti casi sia bimodali che unimodali. La distribuzione mostrava caratteristiche di stabilità nel corso della durata dello starnuto (pari a 0.3-0.7 s). La seconda importante osservazione riguarda i valori medi di tali distribuzioni, pari a $360.1 \mu m$ nel caso unimodale e $74.4 \mu m$ nel caso bimodale (con valori medi dei singoli picchi pari rispettivamente a $386.2 \mu m$ e $72.0 \mu m$). **Tali valori sono enormemente maggiori di quelli ottenuti dagli altri sperimentatori, se pur per eventi respiratori diversi.** Ciò emerge chiaramente dal già citato confronto della Figura 5.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il Presidente Giorgio Parisi e Pietro Cappuccinelli, Linceo, per i loro preziosi suggerimenti.

Riferimenti Bibliografici

- Almstrand, A. C. *et al.* (2010) Effect of airway opening on production of exhaled particles. *J. Appl. Physiol.* 108 (3), 584-588.
- Anderson, M. e May, R.M. (2008) *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*. Oxford University Press.
- Anfinrud, P., V. Stadnytskyi, C. E. Bax e A. Bax (2020) Visualizing speech-generated oral fluid droplets with laser light scattering. *N. Engl. J. Med.*, 10.1056/NEJMc2007800
- Asadi, S., C.D. Cappa, A. S. Wexler, S. Barreda, N.M. Bouvier e W.D. Ristenpart (2019) Aerosol emission and superemission during human speech increase with voice loudness, *Sci. Rep.*, 9, Article number: 2348
- Asadi, S., N. Bouvier, A.S. Wexler e W.D. Ristenpart (2020) The coronavirus pandemic and aerosols: does COVID-19 transmit via expiratory particles? *Aerosol Sci. Technol.* 54 (6)
- Asfour, O. S. e M.B. Gadi (2007) A comparison between CFD and network models for predicting wind-driven ventilation in buildings. *Build. Environ.*, 42, 4079–4085. (doi:10.1016/j.buildenv.2006.11.021)
- Atkinson, M. P. e L.M. Wein (2008). Quantifying the routes of transmission for pandemic influenza. *Bull. Math. Biol.*, 70, 820-867.
- Bae, S. *et al.* (2020) Effectiveness of Surgical and Cotton Masks in Blocking SARS–CoV-2: A Controlled Comparison in 4 Patients, *Annals of Internal Medicine (Observation: Brief Research Report)* (<https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-1342>)
- Bahl, P., C. Doolan, C. de Silva, A. A. Chughtai, L. Bourouiba e C.R. MacIntyre (2020) Airborne or droplet precautions for health workers treating coronavirus disease 2019? *J. Infect. Dis.*, jiaa189, 1-8. (<https://academic.oup.com/jid/advance-article/doi/10.1093/infdis/jiaa189/5820886>)
- Birchenough G.M. *et al.* (2015) New developments in goblet cell mucus secretion and function, *Mucosal Immunol.*, 8, 712-719.
- Blake, J. (1971) A spherical envelope approach to ciliary propulsion. *J Fluid Mech*, 46, 199-208.
- Blake, J. (1975) On the movement of mucus in the lung. *J. Biomech.*, 8, 179-190.
- Bourouiba, L., E. Dehandschoewercker e J.W.M. Bush (2014) Violent expiratory events: on coughing and sneezing. *J Fluid Mech*, 745, 537-563.
- Bourouiba L. (2016) A sneeze. *N. Engl. J. Med.*, 375, e15.
- Celani, A., G. Falkovich, A. Mazzino e A. Seminara (2005) Droplet condensation in turbulent flows, *Europhys. Lett.* 70, 775-781.
- Chan J. F. *et al.* (2020) Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan, *Emerging Microbes Infect.*, 9, 221-236.
- Chao C.Y.H. *et al.* (2009) Characterization of expiration air jets and droplet size distributions immediately at the mouth opening. *J. Aerosol Sci.*, 40, 122-133. (doi:10.1016/j.jaerosci.2008.10.003)

- Chin A. W. H. *et al.* (2020) Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions, www.thelancet.com/microbe, Vol. 1, e10
- Chinazzi, M. *et al.* (2020) The effect of travel restrictions on the spread of the 2019 novel coronavirus (COVID-19) outbreak, *Science*, 368 (6489), 395-400.
- Chu, D.K. *et al.* (2020) Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis, *Lancet*, 6736, 2-15, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31142-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31142-9)
- Clark, R. P. e M. De Calcina-Goff (2009) Some aspects of the airborne transmission of infection. *J. Roy. Soc. Interface*, 6, S767–S782.
- Cyranoski D. (2020) Profile of a killer: the complex biology powering the coronavirus pandemic, *Nature*, 581, 22-26.
- Davis, R.E., E. Dougherty, C. McArthur, Q.S. Huang, G. Baker e M.G. Cold (2016) Dry air is associated with influenza and pneumonia mortality in Auckland, New Zealand. *Influenza Other Respir. Viruses*, 10, 310–313.
- Day, M. (2020) Covid-19: four fifths of cases are asymptomatic, China figures indicate. *Brit. Med. J.*, 369, m137.
- Derby, M.M. *et al.* (2017) Update of the scientific evidence for specifying lower limit relative humidity levels for comfort, health, and indoor environmental quality in occupied spaces (RP-1630). *Sci. Technol. Built Environ.*, 23, 30-45
- Duguid, J.P. (1945). The numbers and the sites of origin of the droplets expelled during expiratory activities, *Edinb. Med. J.*, 52, 385.
- Duguid, J.P. (1946) The size and the duration of air-carriage of respiratory droplets and droplet-nuclei. *J. Hyg.*, 44, 471-479. (doi:10.1111/j.1600-0668.2007.00469.x)
- Fabian, P. *et al.* (2008). Influenza virus in human exhaled breath: An observational study. *PLoS ONE*, 3, e2691.
- Fathizadeh, H. *et al.* (2020) Protection and disinfection policies against SARS-CoV-2 (COVID-19) (2020) *Infez. Med.*, 28(2), 185-191.
- Fennelly, K. P., Martyny, J. W., Fulton, K. E., Orme, I. M., Cave, D. M. e L.B. Heifets (2004) Cough-generated aerosols of *Mycobacterium tuberculosis*—A new method to study infectiousness,. *Am. J. Resp. Critical Care Med.*, 169, 604-609.
- Ferretti L. *et al.* (2020) Quantifying SARS-CoV-2 transmission suggests epidemic control with digital contact tracing. *Science*, DOI: 10.1126/science.abb6936.
- Flaxman, S. *et al.* (2020) Report 13: Estimating the number of infections and the impact of non-pharmaceutical interventions on COVID-19 in 11 European countries. Center for Global Infectious Disease Analysis, Imperial College London, Rapporto Tecnico. (<https://spiral.imperial.ac.uk:8443/handle/10044/1/77731>)
- Flugge, C.V. (1897), *Ztschr. f. Hyg.*, 25, 179.
- Frisch, U. (1995) *Turbulence: The Legacy of A. N. Kolmogorov*, Cambridge University Press.
- Gatto, M. *et al.* (2020) Spread and dynamics of the COVID-19 epidemic in Italy: effects of emergency containment measures, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 117(19), 10484–10491.

- Geller C. *et al.* (2012) Human Coronaviruses: Insights into Environmental Resistance and Its Influence on the Development of New Antiseptic Strategies, *Viruses* 2012, 4,:3044-3068 ; doi:10.3390/v4113044
- Ghaem-Maghami, A. e H. Johari (2010) Velocity field of isolated turbulent puffs, *Phys. Fluids* 22, 115105
- Grotberg, J. B. (1994) Pulmonary Flow and Transport Phenomena, *Annu. Rev. Fluid Mech.* 26, 529-571
- Gupta, J. K., C.H. Lin e Q. Chen (2009) Flow dynamics and characterization of a cough. *Indoor Air* 19, 517-525.
- Han, Z. Y., Weng, W. G. e Q. Y. Huang. (2013) Characterizations of particle size distribution of the droplets exhaled by sneeze, *J. Roy. Soc. Interface*, 10. 20130560. <http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2013.0560>
- Ijaz, M. K. et al. (1985) Survival Characteristics of Airborne Human Coronavirus 229E. *J. Gen. Virol.* , 2743-2748.
- Ikäheimo, T.M. *et al.* (2016) A Decrease in Temperature and Humidity Precedes Human Rhinovirus Infections in a Cold Climate. *Viruses*, 8, 244.
- Kampf, G., D. Todt, S. Pfaender e E. Steinmann (2020) Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents, *J. Hospital Infection*, 104, 246-251, <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022>.
- Kissler, S.M., Tedijanto, C., Goldstein E, Grad, Y.H. e Lipsitch, M. (2020) Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the post-pandemic period, *Science*, 368, eabb5793 10.1126/science.abb5793.
- Kovaszny, L.S.G., H. Fujita e R.L. Lee (1973) Unsteady turbulent puffs, *Adv. Geophys.* 18B, 253-263
- Jennison, M.W. (1942). Atomizing of mouth and nose secretions into the air as revealed by high speed photography, *Aerobiology*, 17, 106–128.
- Johnson, D. F., J.D. Druce, C. Birch e M.L. Grayson (2009) A quantitative assessment of the efficacy of surgical and N95 masks to filter influenza virus in patients with acute influenza infection. *Clin. Infect. Dis.*, 49, 275-277.
- Laoukili J. (2001) IL-13 alters mucociliary differentiation and ciliary beating of human respiratory epithelial cells, *Clin. Invest.*, 08:1817-1824
- Lavezzo *et al.* (2020), Suppression of COVID-19 outbreak in the municipality of Vo, Italy. *medRxiv*, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.20053157>.
- Lee S. A., S. A. Grinshpun e T. Reponen (2008) Respiratory Performance Offered by N95 Respirators and Surgical Masks: Human Subject Evaluation with NaCl Aerosol Representing Bacterial and Viral Particle Size Range, *Ann. Occup. Hyg.* 52 (3), 177-185, doi:10.1093/annhyg/men005
- Lee, J. *et al.* (2019). Quantity, Size Distribution, and Characteristics of Cough-generated Aerosol Produced by Patients with an Upper Respiratory Tract Infection. *Aerosol Air Qual. Res.* 19: 840-853. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2018.01.0031>
- Leung N.H.L. *et al.* (2020) Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks, *Nature Medicine*, 26, 676-680 www.nature.com/naturemedicine .
- Lewis, D. (2020) Is the coronavirus airborne? Experts can't agree, *Nature*, 580, 175.
- Li, Y., X. Huang, I. T. S. Yu, T. W. Wong e H. Qian, (2004), Role of air distribution in SARS transmission during the largest nosocomial outbreak in Hong Kong, *Indoor Air*, 15: 83-95.

- Li, Y. *et al.* (2007) Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment—a multidisciplinary systematic review. *Indoor Air* 17, 2 - 18. (doi:10. 1111/j.1600-0668.2006.00445.x)
- Li, J., J. Liu, J. Pei, K. Mohanarangam e W. Yang (2018). Experimental study of human thermal plumes in a small space via large-scale TR PIV system. *Int. J. Heat and Mass Transfer*, 127, 970-980.
- Li, R. *et al.* (2020) Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (Covid-19). *Science*. eabb3221. doi:10.1126/science. abb3221.
- Linden, P.F. (1999) The Fluid Mechanics of Natural Ventilation *Annu. Rev. Fluid Mech.* 31:201–38
- Lipsitch, M. *et al.* (2003) Transmission dynamics and control of severe acute respiratory syndrome, *Science* 300, 1966-1970.
- Liu L., J. Wei J., Y. Li e A. Ooi (2017) Evaporation and dispersion of respiratory droplets from coughing. *Indoor Air* 2017; 27:179-90.
- Liu, Y. *et al.* (2020) Aerodynamic characteristics and RNA concentration of SARS-CoV-2 aerosol in Wuhan hospitals during COVID-19 outbreak, *bioRxiv*, <http://doi.org/dqts>.
- Long, Y. *et al.* (2020) Effectiveness of N95 respirators versus surgical masks against influenza: A systematic review and meta-analysis. *J. Evidence-Based Medicine* n/a
- Loudon R.G. e Roberts R.M. (1967) Droplet expulsion from respiratory tract. *Am. Rev. Respir. Dis.* 95, 435-442.
- Malashenko, A., A. Tsuda e S. Haber (2009) Propagation and breakup of liquid menisci and aerosol generation in small airways. *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* 22 (4), 341-353.
- Matricardi P. *et al.* (2020) The First, Comprehensive Immunological Model of COVID-19: Implications for Prevention, Diagnosis, and Public Health Measures. *Preprints*, 2020040436.
- Mittal, R., Rui N. and J. H. Seo (2020) The flow physics of COVID-19, *J. Fluid Mech.*, 894, F2.
- Morawska, L. *et al.* (2006) Droplet fate in indoor environments, or can we prevent the spread of infection? *Indoor Air*, 16, 335-347.
- Morawska, L. *et al.* (2009) Size distribution and sites of origin of droplets expelled from the human respiratory tract during expiratory activities. *J. Aerosol Sci.*, 40, 256-269.
- Moriarty, J.A. e J.B. Grotberg (1999) Flow-induced instabilities of a mucus-serous bilayer. *J. Fluid Mech.*, 397, 1-22.
- Moriyama, M., W. J. Hugentobler, and A. Iwasaki (2020) Seasonality of Respiratory Viral Infections *Annu. Rev. Virol.* 2020.7. Downloaded from <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-012420-022445>. Access provided by 93.34.85.243 on 05/19/20.
- National Academy of Sciences of the United States (2006) Reusability of facemasks during an influenza pandemic: facing the flu, Rapporto Tecnico, <http://nas.edu/11637>
- Noakes, C. J. e P.A. Sleight (2009) Models to assess airborne infection risk, *J. Roy. Soc. Interface* 6, S791–S800 (doi:10.1098/rsif.2009.0305.focus)

- Papineni, R. S. e Rosenthal, F.S. (1997). The size distribution of droplets in the exhaled breath of healthy human subjects. *J. Aerosol Med.*, 10, 105-116.
- Parianta D. *et al.* (2011) Theoretical analysis of the motion and evaporation of exhaled respiratory droplets of mixed composition. *J. Aerosol Sci.*; 42:1-10.
- Pepe, E. *et al.* (2020) COVID-19 outbreak response: first assessment of mobility changes in Italy following lockdown. Rapporto Tecnico (COVID-19 Mobility Monitoring project)
<https://covid19mm.github.io/in-progress/2020/03/13/first-report-assessment.html>.
- Plateau, J. (1873). *Statique expérimentale et théorique des liquides soumis aux seules forces moléculaires*, Vol. 2, Gauthier-Villars.
- Powell, R. L., E.F. Aharonson, W.H. Schwarz, D.F. Proctor, G.K. Adams e M. Reasor (1974). Rheological behavior of normal tracheobronchial mucus of canines. *J. Appl. Physiol.* 37: 447-51
- Pyankov O. V. *et al.* (2017) Survival of aerosolized coronavirus in the ambient air, *J. Aerosol Sci.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaerosci.2017.09.009>
- Radonovich L.J. *et al.* (2019) N95 Respirators vs Medical Masks for Preventing Influenza Among Health Care Personnel: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 322, 824-833.
- Rayleigh, J.W.S. (1879). On the instability of jets. *Proc. London Math. Soc.*, 12, 4-13.
- Riley, E.C., Murphy G. e Riley R.L. (1978) Airborne spread of measles in a suburban elementary school, *Am. J. Epidemiol.*, 107, 421-432.
- Romanò, F., H. Fujioka, M. Muradoglu e J.B. Grotberg (2019) Liquid plug formation in an airway closure model. *Phys. Fluids*, 4 (9), 093103.
- Ross, S.M. e S. Corrsin (1974) Results of an analytical model of mucociliary pumping. *J. Appl. Physiol.* 37: 333-340
- Ross, B.B., R. Gramiak e H. Rahn (1955) Physical dynamics of the cough mechanism. *J. Appl. Physiol.* 8: 264-69
- Rothe, C. *et al.* (2020) Transmission of 2019-ncov infection from an asymptomatic contact in Germany, *New Engl. J. Med.*, 382 (10):970-1. doi:10.1056/NEJMc2001468.
- Rudnick, S.N. e D.K. Milton (2003) Risk of airborne infection transmission estimated from carbon dioxide concentration, *Indoor Air* 13, 237–245. (doi:10.1034/j.1600-0668.2003.00189.x)
- Santarpia, J.L. *et al.* (2020) Transmission potential of SARS-CoV-2 in viral shedding observed at the University of Nebraska medical center, *medRxiv*, <http://doi.org/dqtw>.
- Scardovelli, R. e Zaleski, S. (1999) Direct numerical simulation of free-surface and interfacial flow. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 31 (1), 567-603.
- Scharfman, B. E., A. H. Techet, J. W. M. Bush e L. Bourouiba (2016) Visualization of sneeze ejecta: steps of fluid fragmentation leading to respiratory droplets, *Exp. Fluids* 57:24. DOI 10.1007/s00348-015-2078-4
- Service, R.F. (2020) You may be able to spread coronavirus just by breathing, new report finds, *Science*, <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/you-may-be-able-spread-coronavirus-just-breathing-new-report-finds>

- Shang, J. *et al.* (2020) Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*. doi:10.1038/s41586-020-2179-y.
- Shraiman, B. e B. Siggia (2000) Scalar turbulence, *Nature*, 405, 639-646.
- Smith, J.D., C.C. MacDougall, J. Johnstone, R.A. Copes, B. Schwartz e G.E. Garber (2016) Effectiveness of N95 respirators versus surgical masks in protecting health care workers from acute respiratory infection: a systematic review and meta-analysis, *CMAJ*, 188(8).
- Sobsey, M.D. e J.S. Meschke (2003) Virus survival in the environment with special attention to survival in sewage droplets and other environmental media of fecal or respiratory origin, Rapporto Tecnico, WHO, Geneva, Switzerland.
- Stadnytskyi, V., C.E. Bax, A. Baxa e P. Anfinrud (2020), The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2006874117
- Tang, B. *et al.* (2020) Estimation of the transmission risk of the 2019-nCoV and its implication for public health Interventions, *J. Clinical Med.*, 9 (2), 1-13. (10.3390/jcm9020462)
- Tellier R. (2006) Review of aerosol transmission of influenza A virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 12: 1657-1662.
- Tellier R. (2009) Aerosol transmission of influenza A virus: a review of new studies. *J. Roy. Soc. Interface*, 6 (Suppl 6), S783-90.
- Tellier, R., Y. Li, B. J. Cowling e J. W. Tang. (2019). Recognition of aerosol transmission of infectious agents: A commentary, *BMC Infectious Diseases*, 19 (1):101 (doi: 10.1186/s12879-019-3707-y)
- To, K. K-W. *et al.* (2020) Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study, *Lancet Infect. Dis.*, 20, 565-574.
- Toki S. *et al.* (2020) TSLP and IL-33 reciprocally promote each other's lung protein expression and ILC2 receptor expression to enhance innate type-2 airway inflammation, *Allergy* (doi: 10.1111/all.14196)
- van Doremalen N. *et al.* (2020) Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV. *New Engl. J. Med.*, <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2004973>
- Viola, I. *et al.* (2020) Face coverings, aerosol dispersion and mitigation of virus transmission risk, *arXiv*, 1-24. (doi: <https://arxiv.org/abs/2005.10720>).
- Walls, A.C. *et al.* (2020) Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein, *Cell*, 180, 281-292.
- Wang, B., A. Zhang, J.L. Sun, H. Liu, J. Hu, and L.X. Xu (2005) Study of SARS transmission via liquid droplets in air, *J. Biomech. Eng.*, 127, 32-38.
- Wang, W. *et al.*, (2020) Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. doi:10.1001/jama.2020.3786.
- Weber, T. P. e Stilianakis, N.I. (2008) Inactivation of influenza a viruses in the environment and modes of transmission: A critical review. *J. Infect.* 57, 361-373.
- Wei J. e Y. Li (2015) Enhanced spread of expiratory droplets by turbulence in a cough jet, *Build. Environ.*, 93, 86-96.

- Wei, J. e Y. Li (2017) Human cough as a two-stage jet and its role in particle transport, *PLoS One*, 12, 1–15.
- Wells, W.F. (1934). On air-borne infection: study 2- droplets and droplet nuclei. *Am. J. Epidemiology*, 20(3),611-618 (doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a118097).
- Wen, Y., J. Leng, S. Xiaobing, H. Gang, S. Lijun e Y. Fei. (2020). Environmental and Health Effects of Ventilation in Subway Stations: A Literature Review. *Int. J. Env. Res. Public Health*, 17, 1084. (doi:10.3390/ijerph17031084).
- World Health Organization. (2020) Management of ill travellers at Points of Entry – international airports, seaports and ground crossings – in the context of COVID -19 outbreak. Rapporto Tecnico. <https://www.who.int/publications-detail/management-of-ill-travellers-at-points-of-entry-international-airports-seaports-and-ground-crossings-in-the-context-of-covid--19-outbreak>
- Wölfel, R. *et al.* (2020), Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019, *Nature*, 581, 465–469 (doi:10.1038/s41586-020-2196-x).
- Xie, X.J., Li, Y.G., Chwang, A.T.Y., P.L. Ho e W.H. Seto (2007) How far droplets can move in indoor environments— revisiting the Wells evaporation–falling curve, *Indoor Air*, 17, 211–225. (doi:10.1111/j.1600-0668.2007.00469.x)
- Xie, X.J., Y.G. Li, H. Sun e L. Liu (2009) Exhaled droplets due to talking and coughing, *J. Roy. Soc. Interface*, 6, S703–S714
- Yang, S. *et al.* (2007). The size and concentration of droplets generated by coughing in human subjects. *J. Aerosol Med.*, 20(4), 484-494.
- Yang, W. e L.C. Marr (2012) Mechanisms by which ambient humidity may affect viruses in aerosols, *Appl. Environ. Microbiol.*, 78 (19), 6781-6788.
- Zayas, G. *et al.* (2012) Cough aerosol in healthy participants: fundamental knowledge to optimize droplet-spread infectious respiratory disease management, *BMC Pulm. Med.*, 12(1), 11.
- Wang, Z., J. Yang e F. Stern (2016) High-fidelity simulations of bubble, droplet and spray formation in breaking waves, *J. Fluid Mech.*, 792, 307-327.
- Zhu S.W., S. Kato e J.H. Yang (2006) Study on transport characteristics of saliva droplets produced by coughing in a calm indoor environment, *Build. Environ.*, 41, 1691-1702.
- Zou, L. *et al.* (2020) SARS-CoV-2 Viral load in upper respiratory specimens of infected patients, *N. Engl. J. Med.*, 382 (12).