

# SORVEGLIANZA DELLE ACQUE REFLUE, LE PROSPETTIVE

IL PROGETTO SARI HA INIZIATO A TESTARE ANCHE IN ITALIA L'APPLICAZIONE DI UN SISTEMA DI SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA AMBIENTALE SULLA PRESENZA DEL VIRUS SARS-COV-2 NELLE ACQUE REFLUE URBANE, CON RISULTATI PRELIMINARI INTERESSANTI. È STATO AVVIATO ANCHE UN PROGETTO SPECIFICO FINANZIATO DAL PROGRAMMA CCM.

L'integrazione tra sistemi di sorveglianza epidemiologica e microbiologica e sorveglianza ambientale può consentire di intercettare precocemente e seguire la circolazione di virus nei territori, approfondire la conoscenza delle relazioni tra soggetti sintomatici e asintomatici, contribuire alla conoscenza sulla circolazione di "variants of concern" (VoC) supportando i processi decisionali basati sull'analisi di rischio, definiti a livello normativo. In ambito virologico, la sorveglianza ambientale sulle acque reflue (*wastewater based epidemiology*, Wbe) si basa sul principio che i virus vengono escreti dai soggetti infetti in quantità rilevanti, mediante le feci e i fluidi corporei, per periodi più o meno lunghi, raggiungendo gli impianti di depurazione attraverso la rete fognaria. I pozzetti in fognatura e le acque reflue in ingresso ai depuratori (prima dei trattamenti) costituiscono pertanto importanti punti di osservazione sulla circolazione di virus e altri patogeni nella popolazione, con la conseguente possibilità di ottenere campioni aggregati di reflui di interi centri urbani e/o circoscrivere e segmentare aree urbane diversamente aggregate attraverso opportune strategie di campionamento. È così possibile intercettare i virus che circolano in una determinata comunità, sia che originino da casi sintomatici sia da individui con infezioni asintomatiche o subcliniche, con la possibilità di controllare aggregati di popolazione più o meno estesi (es. aree metropolitane, quartieri cittadini) mediante una strategia di campionamento basata sulla conoscenza delle reti fognarie. Durante l'attuale pandemia, tracce del genoma di Sars-cov-2 sono state identificate in acque reflue in moltissime aree del mondo, tra cui Paesi Bassi, Usa, Francia, Spagna, Australia, Cina, Giappone, Regno Unito e Israele<sup>1,2</sup>. In Italia, un primo studio da parte dell'Istituto superiore di sanità ha consentito di rinvenire frammenti del genoma di Sars-cov-2 in reflui urbani

di Roma e Milano<sup>3</sup> tra febbraio e aprile 2020. Attraverso ricerche successive effettuate su campioni di archivio raccolti nel nord Italia (Milano, Torino e Bologna) in periodo pre-epidemico, la presenza di Rna di Sars-cov-2 è stata evidenziata già nel mese di dicembre 2019 a Milano e Torino (18/12/2019), e a gennaio 2020 a Bologna (29/1/2020)<sup>4</sup>. In particolare, lo studio ha analizzato 40 campioni di acque reflue prelevati da ottobre 2019 a febbraio 2020 e i risultati sono stati confermati da due diversi laboratori all'interno dell'Iss con due differenti metodiche (una *nested* Rt-Pcr e una *real-time* Rt-qPcr). Nelle stesse città sono stati trovati campioni positivi anche nei mesi successivi di gennaio e febbraio 2020. Questo significa che nelle acque di scarico di Torino e Milano il virus era già presente nelle settimane antecedenti i primi casi notificati.

## Applicazione di Wbe

Diversi Paesi hanno dato avvio a programmi di sorveglianza ambientale del Sars-cov-2 in reflui urbani e reti di collegamento per lo scambio di informazioni in tempo reale fra ricercatori di tutto il mondo (*figura 1*)<sup>5</sup>. A livello europeo è in fase di definizione un sistema di monitoraggio, con

numerosi contributi da parte di laboratori italiani<sup>6,7</sup>. La Wbe è anche raccomandata dal Ministero della Salute nell'ambito della "Prevenzione e risposta a Covid-19: evoluzione della strategia e pianificazione nella fase di transizione per il periodo autunno-invernale"<sup>8</sup>, al fine di acquisire indicazioni sull'andamento epidemico e sviluppare un sistema di allerta precoce, in linea anche con le indicazioni europee di *Preparazione sanitaria* per affrontare i focolai di Covid-19 e con le recenti indicazioni dell'Oms<sup>9</sup> e della Ue<sup>10</sup>.

## Stato dell'arte sul piano nazionale

Grazie alla disponibilità offerta su base volontaria da laboratori di diverse regioni italiane, dal 1° luglio 2020 ha preso avvio un progetto non finanziato denominato Sari ("Sorveglianza ambientale di Sars-cov-2 attraverso i reflui urbani in Italia"), proposto dall'Iss e condiviso con il Cip - Coordinamento interregionale della prevenzione, Commissione salute, Conferenza delle Regioni e Province autonome, fondato sulla cooperazione del Sistema nazionale di protezione ambientale (Snpa) e dell'Associazione delle aziende idriche Utilitalia. Il progetto propone un'attività di sorveglianza ambientale per Sars-cov-2, sul modello della Wbe in cui generalmente la struttura



FIG. 1 SORVEGLIANZA ACQUE REFLUE  
Sinossi delle applicazioni di epidemiologia basata sulle acque reflue per Sars-cov-2 ([www.covid19wbec.org/covidpools19](http://www.covid19wbec.org/covidpools19)).

regionale, sotto l'egida dell'Assessorato alla Sanità, prevede una differenziazione delle attività tra le diverse strutture partecipanti:

- 1) prelievo: autorità di protezione dell'ambiente (Arpa) e/o gestori idrici
- 2) estrazione del genoma e identificazione/quantificazione di Sars-cov-2 nei reflui: strutture laboratoristiche delle Asl, Istituti zooprofilattici sperimentali, Arpa, Università, gestori e altri centri di ricerca.

Nel corso delle attività di progetto, a oggi:

- sono stati sviluppati e diramati gli indirizzi metodologici e procedurali per il campionamento e l'analisi dei reflui
- sono state definite gerarchie e flussi delle strutture regionali che costituiscono la dorsale nazionale: in particolare ogni Regione/Provincia autonoma aderente al progetto ha definito una rete di siti di campionamento (notevolmente variabile per estensione e frequenza di campionamento e analisi tra le regioni) e di strutture operative
- è stata strutturata una *dashboard* di acquisizione e gestione dati ad accesso controllato, funzionale ad essere alimentata e visualizzata dalle Regioni e Province autonome, con il coordinamento di Iss (*figura 2*).

Il progetto Sari è stato di recente incardinato in un programma Ccm del Ministero della Salute, avviato a marzo 2021; il progetto prevede la partecipazione formale di 14 Regioni/Province autonome (con ampliamento in corso) con capofila la Regione Lombardia, una durata di 24 mesi, un finanziamento che tuttavia non copre i costi delle attività delle Regioni. Nell'attuale configurazione e per gli obiettivi specifici, pertanto, il progetto Ccm non è comparabile per copertura, rappresentatività, tempi diagnostici e sostenibilità a un eventuale sistema Wbe nazionale. Al momento, i risultati preliminari del progetto Sari in aree pilota<sup>11</sup> indicano d'altra parte evidenze sostanziali per un'efficace applicazione dell'approccio nelle fasi epidemiche attuali e nei possibili sviluppi.

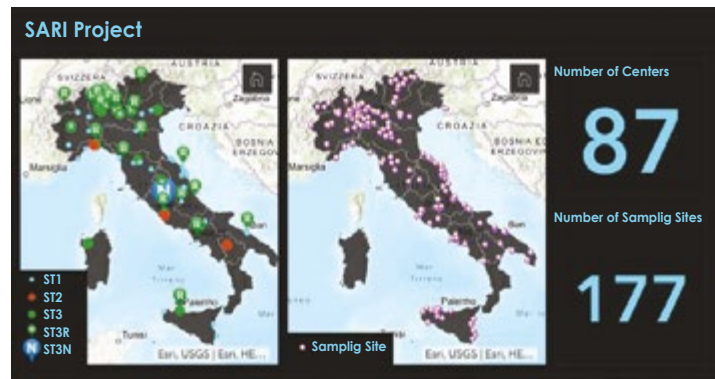
## Potenzialità e possibili prospettive

Il progetto Sari, inizialmente avviato sulla base della partecipazione volontaria da Iss, strutture ambientali e sanitarie regionali, e di recente incardinato in un progetto biennale Ccm, si configura come:

a) attività di natura sperimentale diversa

FIG. 2  
PROGETTO SARI

Dashboard del progetto Sari (aggiornamento dicembre 2020).



per tempi, estensione territoriale e necessità in risorse umane e strumentali e logistiche dell'attività di sorveglianza in tempo reale

b) azione di natura volontaria non finanziata per le attività regionali, dipendendo pertanto dalle risorse economiche e di personale e dai tempi delle strutture regionali, senza impegni formali per l'acquisizione e la trasmissione dei dati di sorveglianza. Nella fase attuale presenta pertanto una copertura territoriale e una rappresentatività limitati e il flusso dati che alimenta la *dashboard* è discontinuo e sporadico, con immissione di dati in forma retrospettiva.

L'eventuale estensione delle attività sperimentali del progetto all'intero territorio nazionale attraverso un processo incrementale dell'alimentazione della rete da parte delle Regioni/Province autonome, contribuendo anche alla maggior granularità del sistema di campionamento dei reflui, potrebbe consentire di approfondire la correlazione con i dati della sorveglianza epidemiologica di popolazione e arricchire le informazioni utili al controllo dell'epidemia anche rispetto alla trasmissione di varianti di Sars-cov-2 di particolare interesse (VoC, identificate con il sequenziamento del Rna virale in acqua reflua, previa messa a punto di metodiche attualmente in fase di sviluppo).

**Giuseppina La Rosa<sup>1</sup>, Elisabetta Suffredini<sup>1</sup>, Mauro Grigioni<sup>1</sup>, Luca Lucentini<sup>1</sup>, Lucia Bonadonna<sup>1</sup>, Mirko Rossi<sup>1</sup>, Marcello Iaconelli<sup>1</sup>, Giusy Bonanno Ferraro<sup>1</sup>, Pamela Mancini<sup>1</sup>, Carolina Veneri<sup>1</sup>, Rosa Paradiso<sup>1</sup>, Danilo Cereda<sup>2</sup>, Emanuela Ammoni<sup>2</sup>, Pasqualino Rossi<sup>3</sup>, Vanessa Groppi<sup>4</sup>, Francesca Russo<sup>4</sup>**

1. Istituto superiore di sanità
2. Regione Lombardia
3. Ministero della Salute
4. Coordinamento interregionale di prevenzione

## NOTE

<sup>1</sup> La Rosa G. et al., 2020, "Reflui e monitoraggio epidemiologico", *Ecoscienza*, n. 3/2020.

<sup>2</sup> Tran H.N., Le G.T., Nguyen D.T. et al., 2021, "Sars-cov-2 coronavirus in water and wastewater: A critical review about presence and concern", *Environ Res.*, 2021;193:110265. doi:10.1016/j.envres.2020.110265

<sup>3</sup> La Rosa G. et al., 2020, "First detection of Sars-cov-2 in untreated wastewaters in Italy", *Science of the total environment*, Volume 736, 20 September 2020, 139652, [www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720331727?via%3Dihub](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720331727?via%3Dihub).

<sup>4</sup> La Rosa G. et al., 2020, "Sars-cov-2 has been circulating in northern Italy since December 2019: Evidence from environmental monitoring", *Sci Total Environ.*, 2020 Aug 15; 750:141711. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141711. Epub ahead of print. PMID: 32835962; PMCID: PMC7428442.

<sup>5</sup> Bivins A. et al., 2020, "Wastewater-based epidemiology: Global collaborative to maximize contributions in the fight against Covid-19", *Environ Sci Technol.*, 2020 Jul 7;54(13):7754-7757. doi: 10.1021/acs.est.0c02388. Epub 2020 Jun 12. PMID: 32530639; PMCID: PMC7299382.

<sup>6</sup> EC-Jrc, 2020, "Sars-cov-2 monitoring employing sewers from an EU umbrella to a sentinel system", Dec 2020.

<sup>7</sup> WHO, "Expert consultation on public health needs related to surveillance of Sars-cov-2 in wastewater. Summary report" Virtual meeting 30 November 2020. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/339487/WHO-EURO-2021-1965-41716-57097-eng.pdf>

<sup>8</sup> <https://bit.ly/3cEvvwh>

<sup>9</sup> [www.who.int/news-room/commentaries/detail/status-of-environmental-surveillance-for-sars-cov-2-virus](https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/status-of-environmental-surveillance-for-sars-cov-2-virus). "Expert consultation on public health needs related to surveillance of Sars-cov-2 virus in wastewater", 30 November 2020.

<sup>10</sup> Brussels, 17.2.2021 COM(2021) 78 final "Communication from the Commission to the European Parliament, the European Council and the Council Hera Incubator: Anticipating together the threat of Covid-19 variants", [https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/communication-hera-incubator-anticipating-threat-covid-19-variants\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/communication-hera-incubator-anticipating-threat-covid-19-variants_en.pdf)

<sup>11</sup> Dati su alcuni siti pilota (Roma, Provincia autonoma di Trento) su circa 6 mesi di sorveglianza.