

VIRUS ENTERICI EMERGENTI NELLE ACQUE ED EPIDEMIE DI ORIGINE VIRALE ASSOCIATE AD ACQUE DI PISCINA

Giusy Bonanno Ferraro, Pamela Mancini, Carolina Veneri
Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le linee guida relative alla qualità delle acque destinate al consumo umano (1) indicano, tra i principali virus enterici trasmissibili per via idrica, virus appartenenti alle famiglie Picornaviridae (enterovirus e virus dell'epatite A), Caliciviridae (norovirus), Adenoviridae (adenovirus), Reoviridae (rotavirus). Tuttavia, numerosi studi dimostrano che altri gruppi di virus, sia enterici sia epiteliotropici, contaminano gli ambienti acquatici e persistono per lunghi periodi; pertanto, sono considerati emergenti o potenzialmente tali. Tra questi, il virus dell'Epatite E (famiglia Hepeviridae), il Sapovirus (famiglia Caliciviridae), il Cosavirus, il Saffoldvirus, il Salivirus e il Kobuvirus (famiglia Picornaviridae). Di recente, inoltre, è stata dimostrata la presenza in matrici idriche di virus epiteliotropici appartenenti alla famiglia Papillomaviridae (Alpha-papillomavirus, Beta-papillomavirus). Sono di seguito brevemente descritti i principali gruppi di virus emergenti o potenzialmente emergenti per le acque.

Il virus dell'epatite E (*Hepatitis E Virus*, HEV) è un virus a trasmissione oro-fecale, responsabile di una malattia virale acuta, generalmente auto-limitante e raramente soggetta a cronicizzazione. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (*World Health Organization*, WHO) stima che ogni anno 20 milioni di persone contraggono l'infezione (> 3 milioni presentano sintomatologia) e circa 44.000 persone muoiono per epatite fulminante correlata a questo virus (2). Il virus può causare insufficienza epatica fulminante in donne in stato di gravidanza e in pazienti con problemi epatici di natura cronica. Nei Paesi in via di sviluppo l'epatite E è endemica e si manifesta con epidemie legate prevalentemente al consumo di acqua contaminata, generate dai ceppi del genotipo 1 e 2. Al contrario, nei Paesi a economia avanzata, la malattia si manifesta con casi clinici sporadici e autoctoni, riconducibili ai genotipi 3 e 4, a trasmissione zoonotico-alimentare (il suino è il principale serbatoio del virus). Negli ultimi anni si è assistito ad un numero crescente di casi autoctoni nei Paesi industrializzati, in pazienti senza storie di viaggi in aree endemiche, causati prevalentemente dal genotipo 3. I principali fattori di rischio nei Paesi ad economia avanzata sono il consumo di carni suine crude o poco cotte e loro prodotti (salsicce di fegato), oltre che l'esposizione diretta ai reservoir animali negli allevamenti. I corpi idrici superficiali possono essere contaminati da reflui suini o urbani. Di fatto, alcuni studi in aree non endemiche dimostrano la presenza di HEV in diverse matrici idriche (reflui urbani grezzi e trattati, acque di fiume, di lago e di mare) e alimentari (molluschi bivalvi e vegetali)(3).

In Italia, i dati del Sistema Epidemiologico Integrato delle Epatiti Virali Acute (SEIEVA), coordinato dal Centro Nazionale per la Salute Globale presso l'Istituto Superiore di Sanità, mostrano un trend costante negli anni dei casi di epatite E legata a viaggi in zone endemiche e un trend in aumento dei casi di epatite E autoctona (senza storie di viaggi in aree endemiche) (4), per i quali il fattore di rischio principale è rappresentato dal consumo di carne di maiale e di cinghiale cruda o poco cotta. Numerosi studi documentano la circolazione dell'HEV nei *reservoir* animali (maiali e cinghiali) e in alcuni alimenti (salsicce di fegato di maiale crude ed essiccate e molluschi bivalvi filtratori). Il virus è stato, inoltre, rilevato in diverse matrici idriche tra cui acque reflue (5), acque di fiume e acque di mare. Sebbene la trasmissione idrica del virus sia stata documentata esclusivamente nei Paesi in via di sviluppo, alla luce delle evidenze della sua presenza in matrici

idriche anche in aree non endemiche, è necessario investigare sulla possibilità di trasmissione idrica dell'HEV anche nei Paesi a economia avanzata.

I sapovirus (genere *Sapovirus*, famiglia Caliciviridae) sono virus a trasmissione oro-fecale, distribuiti a livello mondiale, responsabili del 26,2% delle gastroenteriti nel mondo, soprattutto in bambini con età inferiore a 5 anni. Il nome sapovirus ha origine da Sapporo (Giappone), località in cui vennero scoperti nel 1977. In seguito sono state descritte epidemie negli USA, in Canada e Africa. Dati di letteratura evidenziano la presenza di sapovirus in diverse matrici idriche e alimentari (molluschi): reflui urbani grezzi (100%); reflui urbani trattati (58%); acque di fiume (64%); vongole (22,6%) e mitili (14,3%).

In Italia vi sono pochi studi clinici che riportano bassi tassi di prevalenza in pazienti pediatrici ospedalizzati (1,2%-10,9%). Due studi ambientali, effettuati su reflui urbani, mostrano positività per sapovirus nel 12,4% e nel 33,7% dei campioni (6-7), indicando una non trascurabile circolazione nella popolazione, nonostante i pochi casi clinici documentati. I dati suggeriscono che il virus circola prevalentemente in maniera asintomatica, oppure che le gastroenteriti da sapovirus non vengono identificate dal momento che il virus non è incluso nei test diagnostici di routine per i casi di gastroenterite.

I cosavirus (genere *Cosavirus*, famiglia Picornaviridae) sono stati isolati per la prima volta in Pakistan nel 2008 da campioni di feci di bambini con paralisi flaccida acuta. Successivamente il virus è stato diagnosticato nelle feci di pazienti in diverse parti del mondo evidenziandone una distribuzione a livello globale. Tuttavia, il ruolo eziologico dei cosavirus ad oggi risulta sconosciuto dal momento che studi caso-controllo hanno dimostrato la presenza del virus sia in pazienti con gastroenterite che senza. In Italia un unico studio ha investigato la presenza dei cosavirus in pazienti con gastroenterite e solo un campione di feci su 689 analizzati è risultato positivo, suggerendone una scarsa circolazione. Nonostante non vi siano evidenze cliniche, uno studio ambientale pubblicato di recente ha dimostrato che in Italia il virus circola nella popolazione, dal momento che è stato rilevato nel 25,5% dei campioni di reflui urbani, con maggiore distribuzione nel centro Italia (8). Ulteriori studi sono necessari per chiarirne il ruolo eziologico, l'epidemiologia molecolare e la potenziale trasmissione *waterborne*.

I saffoldvirus (SAFV) sono patogeni emergenti a trasmissione oro-fecale classificati nel genere *Cardiovirus*, appartenente alla famiglia Picornaviridae. Il virus fu isolato per la prima volta nel 2007, a San Diego (Stati Uniti), da un campione di feci di un paziente pediatrico che manifestava febbre di origine sconosciuta; negli anni successivi è stato identificato in diversi Paesi da pazienti con un ampio spettro di patologie: paralisi flaccida acuta non polio, infezioni respiratorie acute, patologie gastrointestinali, miocarditi e malattie del sistema nervoso. Soltanto due studi ambientali, condotti negli Stati Uniti e in Giappone, sono disponibili in letteratura: da questi è emerso che il virus era presente, rispettivamente, nel 43% (9/21) e 16,7% (2/12) di campioni di reflui urbani.

In Italia un unico studio clinico ha identificato SAFV nelle feci di un paziente (su 164 testati) con gastroenterite acuta. Una sorveglianza ambientale condotta nel biennio 2017-2018 ha rilevato SAFV nel 4,3% di campioni di reflui urbani (6/141), dimostrando la circolazione del patogeno, anche se in basse percentuali, in accordo con i dati presenti in letteratura (9).

I papillomavirus, membri della famiglia Papillomaviridae, sono responsabili di infezioni molto diffuse, nella maggior parte dei casi transitorie e asintomatiche, che possono talvolta manifestarsi con lesioni benigne della cute e delle mucose. Tuttavia, possono determinare l'insorgenza di forme tumorali in sede genitale (es. vagina, vulva, ano, pene) ed extragenitale (cavità orale, faringe, laringe).

Uno studio di metagenomica virale in reflui urbani, condotto nel 2011, ha per la prima volta evidenziato che anche i virus epiteliotropici, come i papillomavirus, possono essere presenti in queste matrici (10). Successivamente, diversi studi ne hanno mostrato la presenza nei reflui urbani

(81%), in acque di fiume (56%) e in acque di piscina (50%) (11-13). Non vi sono dati sulla resistenza dei papillomavirus a fattori ambientali inattivanti e ai disinfettanti; tuttavia, alla luce delle evidenze sulla loro presenza in diverse matrici idriche, sono necessari studi futuri per investigare sulla loro potenziale trasmissione idrica.

La WHO, nelle linee guida relativa agli ambienti acquatici salubri a uso ricreativo, individua un'ampia gamma di rischi di tipo chimico, fisico e biologico per questi ambienti (14). Il rischio biologico è determinato da virus, batteri, protozoi e funghi. I virus potenzialmente responsabili di infezioni in acque di piscina includono virus a trasmissione oro-fecale (adenovirus, enterovirus, norovirus, virus dell'Epatite A) e virus di derivazione non fecale, trasmessi per contatto, quali molluscipoxvirus e papillomavirus. Gli adenovirus possono essere trasmessi con entrambe le modalità.

I virus, in quanto parassiti intracellulari obbligati, non possono replicarsi all'esterno dei tessuti dell'ospite e non possono moltiplicarsi nell'ambiente, pertanto la loro presenza nell'acqua è conseguenza di una contaminazione. La contaminazione può essere causata dagli utenti frequentatori degli impianti, mediante secrezioni (es. feci, vomito, muco, saliva, sudore) e frammenti di pelle in acqua, oppure può derivare da una contaminazione delle acque di riempimento vasca. Dati di letteratura su epidemie virali associate ad attività ricreative evidenziano che il 48% sono associate ad acque di piscine, il 40% ad acque di laghi o stagni e il restante 12% a fontane, sorgenti termali e fiumi (4% ciascuno) (15). Di recente, una revisione di letteratura ha raccolto dati su epidemie virali da acque di piscina, documentando 31 epidemie (16) dal 1951 al 2013 con circa 2800 casi (Tabella 1), associate principalmente ad adenovirus (15 epidemie), norovirus (7 epidemie), enterovirus (6 epidemie) e virus dell'epatite A (3 epidemie).

Tabella 1 Virus di origine fecale coinvolti nelle epidemie associate ad acque di piscina

Virus	N. epidemie e periodo	N. casi	Agente eziologico
Adenovirus	15 (1953-2013)	2000	HAdV, HAdV3, HAdV 7, HAdV 7a HAdV4
Enterovirus	6 (1979-2003)	481	Enterovirus-like, Echovirus 30, Echovirus 3, Echovirus 13, Echovirus 9
Norovirus	7 (1977-2006)	452	-
Virus dell'epatite A	3 (1987-1997)	83	-

Nella maggior parte degli studi il virus è stato ricercato esclusivamente nelle feci dei pazienti; in 5 delle 31 epidemie descritte è stato identificato anche nelle acque di piscina, in alcuni casi con parametri microbiologici nella norma (17-19). Problematiche connesse con la disinfezione sono state evidenziate come causa principale delle epidemie associate alle piscine. Altre cause sono state rappresentate da sovraffollamento e condizioni di insufficiente manutenzione dell'impianto (20), oppure contaminazione da servizi igienici (21). Sono stati inoltre documentati episodi di contaminazione importante da parte dei bagnanti, con rilascio di vomito e diarrea in vasca (22-24).

Alcuni autori hanno effettuato studi sulla presenza di virus enterici in acque di piscina in assenza di eventi epidemici, riportando percentuali di positività dal 3,2% al 100% per enterovirus, dal 3,2% al 18,7% per adenovirus e 18,7% per norovirus.

I virus di origine non fecale includono molluscipoxvirus e papillomavirus. Il molluscipoxvirus è responsabile del mollusco contagioso, malattia cutanea contagiosa che si presenta con papule

rosee sulla pelle di pochi mm di diametro. L'infezione virale è benigna e molto comune, senza particolari conseguenze (lievi disturbi come prurito e rossore) e tende a regredire spontaneamente. Può colpire a qualunque età, ma è più diffuso tra bambini e giovani adulti, interessando il 5-10% dei bambini tra 0 e 16 anni (25-26). La trasmissione avviene per contatto diretto da persona a persona o indiretto con superfici contaminate, ad esempio negli spogliatoi di palestre, piscine e docce, o per condivisione di oggetti come biancheria intima e asciugamani. Alcuni studi associano il molluscipoxvirus alla frequentazione di impianti natatori (27-28).

I papillomavirus causano infezioni alla cute e alle mucose, provocando lesioni benigne come verruche, condilomi o papillomi. Alcune lesioni possono evolvere verso forme neoplastiche. Le verruche sono comuni lesioni cutanee di natura benigna che possono interessare qualsiasi area del corpo; in genere le parti più colpite sono le mani (in particolare il dorso e le dita delle mani) e i piedi. Il virus penetra nella cute dove sono presenti abrasioni o microtraumi. La frequentazione a piedi nudi di ambienti quali piscine e spogliatoi di palestre, dove l'umidità favorisce la macerazione della pelle, rende più facile la penetrazione del virus. Studi recenti hanno dimostrato, per la prima volta, la presenza di papillomavirus in acque di piscina che presentavano parametri microbiologici nella norma e assenza di virus enterici (29-30).

Gli impianti natatori, per le loro caratteristiche di ambienti circoscritti e spesso affollati, rappresentano siti dove è rilevante il rischio igienico-sanitario. In generale, episodi di epidemie virali connessi alle piscine sono da considerarsi, sulla base dei dati di letteratura, relativamente poco frequenti. Tuttavia, è probabile una sottostima delle epidemie, legata alla difficoltà di associazione tra la frequentazione della piscina e la sintomatologia e dalle difficoltà metodologiche nell'identificazione dei virus nelle acque, la cui presenza non è segnalata sulla base dei controlli di qualità effettuati di routine sulle acque. Inoltre, in Italia non esiste un sistema di sorveglianza delle malattie di origine idrica e quindi una raccolta di dati epidemiologici sulle infezioni associate all'uso delle piscine. Sarebbe auspicabile istituire un sistema per associare le patologie alla frequentazione delle piscine, al fine di valutare la necessità di mettere in atto interventi preventivi.

Le epidemie documentate in letteratura individuano tra le principali cause, insufficiente disinfezione e/o pulizia delle acque di piscina, eventi di rilascio accidentale di fluidi corporei da parte dei bagnanti, condizioni di sovraffollamento. È pertanto fondamentale mantenere le piscine in condizioni di funzionalità ottimale dal punto di vista igienico-sanitario e assicurare la conoscenza delle buone norme comportamentali dei frequentatori degli impianti al fine di garantire il benessere e la sicurezza degli utenti.

Bibliografia

1. WHO. *Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum*. Geneva: World Health Organization; 2017.
2. WHO. *Hepatitis E*. Geneva: World Health Organization; 2020.
3. Fenaux H, Chassaing M, Berger S, Gantzer C, Bertrand, Schvoerer E. Transmission of hepatitis E virus by water: An issue still pending in industrialized countries. *Water Res* 2019; 151:144-57.
4. *Bollettino del Sistema Epidemiologico Integrato delle Epatiti Virali Acute (SEIEVA)* - numero 6 - aggiornamento 2019, marzo 2020. Disponibile all'indirizzo: <https://www.epicentro.iss.it/epatite/bollettino/Bollettino-n-6-marzo-2020.pdf>; ultima consultazione 29/09/2020.
5. Iaconelli M, Bonanno Ferraro G, Mancini P, *et al.* Nine-year nationwide environmental surveillance of hepatitis E virus in urban wastewaters in Italy (2011-2019). *Int J Environ Res Public Health* 2020;17(6):2059.

6. Di Bartolo I, Ponterio E, Battistone A, Bonomo P, Cicala A, Mercurio P, Triassi M, Pennino F, Fiore L, Ruggeri FM. Identification and genotyping of human sapoviruses collected from sewage water in Naples and Palermo, Italy, in 2011. *Food Env Virol* 2013;5(4):236-40.
7. Mancini P, Bonanno Ferraro G, Iaconelli M, Suffredini E, Valdazo-González B, Della Libera S, Divizia M, La Rosa G. Molecular characterization of human Sapovirus in untreated sewage in Italy by amplicon-based Sanger and next-generation sequencing. *J Appl Microbiol* 2019;126 (1):324-31.
8. Bonanno Ferraro G, Mancini P, Divizia M, Suffredini E, Della Libera S, Iaconelli M, La Rosa G. Occurrence and genetic diversity of human cosavirus in sewage in Italy. *Food Environ Virol* 2018;10(4):386-90.
9. Bonanno Ferraro G, Mancini P, Veneri C, Iaconelli M, Suffredini E, Brandtner D, La Rosa G. Evidence of Saffold virus circulation in Italy provided through environmental surveillance. *Lett Appl Microbiol* 2020 Feb;70(2):102-108. doi: 10.1111/lam.13249.
10. Cantalupo PG, Calgua B, Zhao G, Hundesa A, Wier AD, Katz JP, Grabe M, Hendrix RW, Girones R, Wang DPJ. Raw sewage harbors diverse viral populations. *mBio* 2011;2(5).
11. La Rosa G, Fratini M, Accardi L, D'Oro G, Della Libera S, Muscillo M, Di Bonito P. Mucosal and cutaneous human papillomaviruses detected in raw sewages. *PLoS ONE* 2013;8(1):e52391.
12. Iaconelli M, Petricca S, Della Libera S, Di Bonito P, La Rosa G. First Detection of human papillomaviruses and human polyomaviruses in river waters in Italy. *Food Env Virol* 2015;7(4):309-15.
13. La Rosa G, Della Libera S, Petricca S, Iaconelli M, Briancesco R, Paradiso R, Semproni M, Di Bonito P, Bonadonna L. First detection of papillomaviruses and polyomaviruses in swimming pool waters: unrecognized recreational water-related pathogens? *J Appl Microbiol* 2015;119(6):1683-91.
14. World Health Organization. *Guidelines for safe recreational water environments. Volume 2: Swimming pools and similar environments*. Geneva: WHO; 2006.
15. Sinclair RG, Jones EL, Gerba CP. Viruses in recreational water-borne disease outbreaks: A review. *J Appl Microbiol* 2009;107:1769-80.
16. Bonadonna L, La Rosa G. A review and update on waterborne viral diseases associated with swimming pools. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(2):166.
17. Van Heerden J, Ehlers MM, Grabow WO. Detection and risk assessment of adenoviruses in swimming pool water. *J Appl Microbiol* 2005;99:1256-64.
18. Bashiardes S, Koptides D, Pavlidou S, Richter J, Stavrou N, Kourtis C, Papageorgiou GT, Christodoulou CG. Analysis of enterovirus and adenovirus presence in swimming pools in Cyprus from 2007-2008. *Water Sci Technol* 2011;63:2674-84.
19. Marzouk YM, Goyal SM, Gerba C. Relationship of viruses and indicator bacteria in water and wastewater of Israel. *Water Res* 1980;14:1585-90.
20. Wei SH. An adenovirus outbreak associated with a swimming facility. *SM Trop Med J* 2016;1: 1007.
21. Maunula L, Kalso S, Von Bonsdorff, CH, Ponka A. Wading pool water contaminated with both noroviruses and astroviruses as the source of a gastroenteritis outbreak. *Epidemiol Infect* 2004;132: 737-43.
22. Fukumi H, Nishikawa M, Takemura M, Odaka Y. Isolation of adenovirus possessing both the antigens of types 3 and 7. *Jpn J Med Sci Biol* 1961;14:173-81.
23. Kee F, McElroy G, Stewart D, Coyle P, Watson J. A community outbreak of echovirus infection associated with an outdoor swimming pool. *J Public Heal Med* 1994;16:145-8.
24. Kelly S, Sanderson WW. Enteric viruses in wading pools. *Public Heal Rep* 1961;76:199-200.
25. Castilla MT, Sanzo JM, Fuentes S. Molluscum contagiosum in children and its relationship to attendance at swimming-pools: an epidemiological study. *Dermatology* 1995;191(2):165.

26. Braue A, Ross G, Varigos G, Kelly H. Epidemiology and impact of childhood molluscum contagiosum: a case series and critical review of the literature. *Pediatr Dermatol* 2005;22(4):287-94.
27. Niizeki K, Kano O, Kondo Y. An epidemic study of molluscum contagiosum. *Dermatology*. 1984;169(4):197-98.
28. Choong KY, Roberts LJ. Molluscum contagiosum, swimming and bathing: a clinical analysis. *Australas J Dermatol* 1999;40(2):89-92.
29. La Rosa G, Della Libera S, Petricca S, Iaconelli M, Briancesco R, Paradiso R, Semproni M, Di Bonito P, Bonadonna L. First detection of papillomaviruses and polyomaviruses in swimming pool waters: Unrecognized recreational water-related pathogens? *J Appl Microbiol* 2015;119:1683-91.
30. Di Bonito P, Iaconelli M, Gheit T, Tommasino M, Della Libera S, Bonadonna L, La Rosa G. Detection of oncogenic viruses in water environments by a Luminex-based multiplex platform for high throughput screening of infectious agents. *Water Res* 2017;123:549-55.