

ACQUA E VIRUS: RISCHI E MISURE DI CONTROLLO

Marcello Iaconelli, Giusy Bonanno Ferraro, Pamela Mancini, Carolina Veneri, Giuseppina La Rosa
Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I virus sono importanti agenti infettivi per l'uomo, gli animali e le piante. Essi vengono definiti come parassiti endocellulari obbligati dal momento che necessitano di un ospite suscettibile per potersi replicare. Sono all'origine di diverse patologie a seconda del distretto in cui sono in grado di replicarsi; le più comuni sono le sindromi gastroenteriche e respiratorie; inoltre, sono responsabili di manifestazioni epatiche, oculari, neurologiche e cutanee.

Strutturalmente sono costituiti da un involucro proteico (il capsido, che per alcuni generi può essere rivestito da una membrana lipoproteica) che circonda l'acido nucleico. Le dimensioni possono variare da 20 a 300 nanometri di diametro.

La trasmissione può avvenire mediante diverse modalità: contatto diretto con soggetti infetti o con superfici contaminate, per via aerea o per ingestione di acqua e/o alimenti contaminati.

I virus enterici si replicano nell'intestino e sono eliminati in concentrazioni molto elevate (fino a 10^{13} particelle per grammo di feci). Si ritrovano, pertanto, in elevate concentrazioni nei reflui urbani grezzi (10^2 - 10^8 copie genomiche (GC) per litro di refluo); possono, tuttavia, essere presenti anche nei reflui trattati mediante trattamento secondario (fino a 10^6 GC/litro) o terziario (fino a 10^5 GC/litro) e, di conseguenza, anche nei corpi idrici recettori (1).

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (*World Health Organization*, WHO) nelle linee guida sulla qualità delle acque potabili ha messo a confronto i virus enterici con altri patogeni enterici (batteri e protozoi) per una serie di parametri quali la rilevanza sanitaria, la persistenza nell'acqua, la resistenza alla disinfezione (cloro) e l'infettività. Condividendo con gli altri patogeni una importante rilevanza sanitaria, i virus presentano livelli più elevati di resistenza al cloro e di persistenza ambientale e una maggiore capacità infettante rispetto ai batteri.

La resistenza dei virus nelle acque in condizioni di stabilità è stata dimostrata nelle acque sotterranee, in cui sono stati registrati periodi di persistenza compresi tra 61 giorni (norovirus) e 364 gg (adenovirus).

Rispetto ai batteri e ai protozoi, caratterizzati rispettivamente da una resistenza bassa ed elevata al cloro, i virus si dimostrano moderatamente resistenti a esso. In generale si raggiungono tassi di inattivazione superiori al 99% a concentrazioni di cloro comprese tra 0,2 e 1 mg/L e tempi di esposizione compresi tra 0,5 e 10 minuti.

I virus enterici umani a trasmissione prevalentemente orale-fecale comprendono 6 famiglie, con 10 generi suddivisi in oltre 150 specie (Tabella 1).

I principali virus per i quali è stata dimostrata l'associazione con epidemie idrotrasmesse sono rappresentati dai generi *Enterovirus*, *Mastadenovirus*, *Norovirus* e *Hepatovirus*.

Il genere *Enterovirus* condivide con gli *Hepatovirus*, i *Kobuvirus* e i *Parechovirus* l'appartenenza alla famiglia Picornaviridae. Esso include polio e non-polio virus. Le infezioni associate a enterovirus (EV) sono molto comuni, con un numero stimato di 10-15 milioni di casi annuali solo negli Stati Uniti. Le manifestazioni cliniche includono patologie delle vie respiratorie, gastroenteriti, congiuntiviti e manifestazioni neurologiche. Sono stati anche associati a malattie croniche, quali il diabete mellito di tipo 1, e a malattie infiammatorie muscolari. Sebbene spesso osservati in concentrazioni elevate nelle matrici idriche, risultano documentate solo poche epidemie associate al consumo di acqua potabile o ad attività ricreative (2-3).

Tabella 1. Principali virus enterici a potenziale trasmissione idrica

Famiglia	Genere	Patogeni umani più importanti	Patologie associate*
Adenoviridae	<i>Mastadenovirus</i>	Adenovirus umani A-G (HAdV)	GE, MR, CN, UR
Astroviridae	<i>Mamastovirus</i>	Astrovirus 1-9 (HAstV)	GE, correlato a IR
Caliciviridae	<i>Norovirus</i>	Norovirus GI, GII (NoV)	GE
	<i>Sapovirus</i>	Sapovirus GI, GII, GIV, GV (SaV)	
Hepeviridae	<i>Ortohepevirus</i>	Virus dell'Epatite E G1, 2, 3, 4, 7 (HEV)	GE, HE
Picornaviridae	<i>Enterovirus</i>	Enterovirus A-D (EV-68, EV-71), Rhinovirus A-C, Poliovirus 1-3, Coxsackievirus A-B	GE, MN, PF, CN, IR, CU
	<i>Hepatovirus</i>	Virus dell'Epatite A GI-GIII (HAV)	AE
	<i>Kobuvirus</i>	Aichivirus A, B, C (AiV)	GE
	<i>Parechovirus</i>	Parechovirus da 1 a 16 (PeV)	GE, IR, EN, MN, HE
Reoviridae	<i>Rotavirus</i>	Rotavirus da A a G (RoV)	GE

*GE: gastroenterite; MR: malattie respiratorie; CN: congiuntivite; IR: infezioni respiratorie; AE: epatite acuta; HE: epatite; EN: encefalite; MN: meningite; PF: paralisi flaccida; CU: cutanee; UR: urinarie

Il genere *Mastadenovirus*, include sette specie di Adenovirus umani (HAdV) da A a G, nella famiglia Adenoviridae (vedi Tabella 1). Sono responsabili di un ampio spettro di manifestazioni cliniche che includono, oltre alle gastroenteriti, sindromi respiratorie, congiuntiviti, affezioni urinarie e renali (4). Negli ambienti idrici risultano ubiquitari essendo stati osservati sia in acque superficiali sia sotterranee anche in assenza degli indicatori microbiologici classici (5). Sono state descritte numerose epidemie da adenovirus associate ad acque ricreative (2-3).

Il genere *Norovirus*, che include i genogruppi umani GI, GII e GIV, è membro, insieme al genere *Sapovirus*, della famiglia Caliciviridae. I norovirus sono responsabili di gastroenteriti acute in forma sporadica o epidemica, che si verificano in prevalenza nei mesi invernali (il norovirus è infatti conosciuto come *winter vomiting disease virus*). Ogni anno nel mondo il numero stimato dei casi è pari a circa 700 milioni, di cui 200 milioni pediatrici. L'85% dei casi e il 99% dei decessi si verificano nei paesi emergenti. La patologia, in genere di tipo autolimitante, può essere severa in soggetti debilitati (es. anziani o immunodepressi). Sulla base di alcune caratteristiche quali l'elevata contagiosità, l'elevato tasso evolutivo da cui deriva una limitata immunità d'ospite e l'elevata virulenza, il norovirus è spesso definito come agente infettivo ideale. Inoltre, sono stati osservati in tutte le tipologie di matrici idriche, incluse le acque superficiali e sotterranee e le epidemie idrotrasmesse documentate nel mondo sono numerose e riguardano sia le acque potabili che quelle ricreative (6). Solo in Italia sono state descritte 8 epidemie idriche con oltre 5 mila casi (7-8).

Il genere *Hepatovirus* è membro della famiglia Picornaviridae e include il virus dell'Epatite A (*Hepatitis A Virus*, HAV). L'infezione da HAV può essere asintomatica oppure si manifesta con febbre, malessere, nausea, dolori addominali, ittero e/o insufficienza epatica protratta che in rari casi può evolvere in forme fulminanti rapidamente fatali. La malattia ha un periodo di incubazione che va da 15 a 50 giorni. Secondo dati della WHO nel 2016, vi sono stati nel mondo oltre 7000 decessi causati da HAV (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-a>). Focolai epidemici dovuti alla trasmissione idrica del virus, sebbene infrequenti, possono verificarsi in occasione di contaminazione accidentale con reflui di acque utilizzate a scopo irriguo, acquacoltura o destinate al consumo umano (9). Sono inoltre documentate epidemie legate ad attività ricreative in piscine (3).

Il genere *Ortohepevirus*, membro della famiglia Hepeviridae, è rappresentato dal virus dell'Epatite E (*Hepatitis E Virus*, HEV). Si tratta di un virus emergente di origine zoonotica il cui serbatoio animale comprende i suini domestici e selvatici, oltre ad altri ungulati come ovini, caprioli e cervi. Le manifestazioni cliniche vanno da una completa assenza di sintomi, all'ittero, fino alla insufficienza epatica. Il periodo di incubazione varia da 2 a 10 settimane. La WHO ha stimato che nel mondo si verificano 20 milioni di casi di infezione di epatite E per anno; di questi, 3,3 milioni sono sintomatici. Nei paesi a economia avanzata il virus si trasmette principalmente dall'animale all'uomo attraverso il consumo di derivati crudi o poco cotti. Nei paesi emergenti, dove le condizioni igienico-sanitarie sono scarse, la trasmissione avviene principalmente attraverso acqua contaminata da feci infette (10) e si verificano epidemie estese con migliaia di casi coinvolti.

In Italia e in Europa il rischio di patologie virali connesse all'uso ricreativo e al consumo di acqua non è noto, a causa della mancanza di un sistema di sorveglianza epidemiologica delle malattie di origine idrica. Negli USA, è invece attivo un sistema consolidato di sorveglianza per le patologie idrodiffuse (*Waterborne Disease and Outbreak Surveillance System*, WBDOS) i cui dati mostrano che dal 1971 al 2014 si sono verificate 928 epidemie idriche (acque potabili) di cui 76 (8,2%) causate da virus. Tuttavia, l'incidenza delle patologie virali idrodiffuse è molto probabilmente sottostimata per la difficoltà di associazione causa-effetto ovvero correlare il consumo di acqua con la manifestazione clinica; inoltre, la ricerca dei virus nelle acque viene effettuata raramente per le difficoltà e la tempistica legate alla rilevazione dei virus dalle matrici idriche.

Una revisione sistematica della letteratura scientifica a partire dalla seconda metà del 18° secolo ha descritto 1519 epidemie idrodiffuse (11): 149 (21%) erano di origine virale, in gran parte attribuite a norovirus e al virus dell'epatite A; 282 (18%) causate da batteri (prevalentemente *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*) e 254 (17%) da protozoi (prevalentemente *Giardia* e *Cryptosporidium*). L'11,59% delle epidemie era invece di origine sconosciuta. Il 56% dei focolai epidemici erano riconducibili ad acque sotterranee mentre il 29% erano attribuiti alle acque superficiali. Rispetto alle tre fasi della filiera idropotabile, ovvero captazione, trattamento e distribuzione, è emerso che il 41% degli eventi epidemici era riconducibile a criticità rilevate alla captazione, il 34% nei trattamenti e il 25% nella rete di distribuzione. Tra le cause rilevanti vi erano contaminazione con reflui o con deiezioni animali, dilavamento dei suoli per effetto di forti precipitazioni, posizionamento inadeguato delle fonti (captazione); difetti di filtrazione o disinfezione (trattamento); rotture nella rete, difetti nei serbatoi di accumulo e riflusso (distribuzione).

Risulta evidente che soltanto un approccio multi barriera può garantire una maggiore sicurezza sanitaria dell'acqua, sia a uso ricreativo sia potabile attraverso una gestione integrata dell'intera filiera idrica, attraverso misure preventive tese a ridurre i rischi di contaminazione da parte di agenti patogeni come, ad esempio, il contenimento delle potenziali fonti di inquinamento, l'implementazione dei processi di trattamento e una gestione più virtuosa delle reti di distribuzione.

L'introduzione da parte della WHO nelle proprie linee guida sulla qualità delle acque potabili dell'approccio preventivo viene descritto nei *Water Safety Plan* (WSP) o Piani di Sicurezza dell'Acqua (PSA) e un piano analogo è in fase di studio per le acque di balneazione da inserire nelle rispettive linee guida attualmente in fase di revisione.

I virus non sono tra i parametri oggetto di controllo routinario nelle acque ricreative e destinate al consumo umano. La normativa nazionale sulle acque potabili è regolata dal DL.vo 31/2001 che prevede solo gli enterovirus come parametro accessorio, da ricercare solo a giudizio dell'autorità sanitaria competente, per i quali è richiesta l'assenza in 100 L. Tuttavia, con il Decreto del Ministero della Salute 14 giugno 2017 che modifica gli allegati I e II del DL.vo 31/2001, viene

stabilito che la scelta dei parametri adeguati per il controllo deve tenere conto delle condizioni locali di ciascuna filiera idropotabile e dei controlli previsti dalle normative interne, fondati su una valutazione del rischio da parte del gestore del servizio idrico.

La sicurezza sanitaria delle acque di balneazione è regolata dalla Direttiva Europea 2006/07/CE recepita a livello nazionale dal DL.vo 116/2008. Gli unici parametri microbiologici previsti sono *Escherichia coli* ed enterococchi intestinali ricercati mensilmente limitatamente alla stagione balneare. Anche per le acque di balneazione è stata raggiunta la consapevolezza da parte della comunità scientifica sull'insufficienza di questi parametri per stabilirne la qualità dal punto di vista sanitario. Ciò ha indotto la Commissione Europea a considerare l'applicazione di altri parametri e di valutare l'applicazione nella futura normativa di approcci di tipo preventivo sul modello dei PSA già applicati per le acque destinate al consumo umano.

L'opportunità nel ricercare i virus enterici potrebbe, quindi, essere riconsiderata nell'ambito di un PSA, qualora la valutazione del rischio lo ritenesse opportuno. Dal momento che diversi tipi di virus enterici umani possono potenzialmente essere presenti nelle acque, risulta estremamente difficile individuare quello che potrebbe possedere i migliori requisiti, tali da renderlo rappresentativo; la ricerca di tutti i patogeni è peraltro di fatto irrealizzabile sia per la complessità dei metodi analitici, sia per i tempi e per i costi da sostenere. L'identificazione di un adeguato indicatore alternativo di fecalizzazione in matrici idriche è tuttora un argomento di grande interesse. Un buon indicatore deve soddisfare i seguenti requisiti: elevata stabilità ambientale, stretta associazione rispetto a determinate fonti inquinanti e rapidità diagnostica. Ciò ha portato diversi gruppi di ricerca a spostare l'attenzione verso i colifagi somatici per la loro rispondenza a tali requisiti. Essi originano quasi esclusivamente dalle feci umane e altri animali a sangue caldo e si moltiplicano in maniera limitata nei reflui in determinate condizioni, tanto da essere stati inseriti nelle attività di verifica avanzate nella proposta di modifica della Direttiva Europea sulle acque potabili. Essendo facilmente coltivabili e avendo molte proprietà in comune con i virus enterici umani (morfologia, struttura, destino e trasporto nell'ambiente), i colifagi somatici sono stati proposti come modelli utili per valutare il destino dei virus enterici nelle acque. Altri studi hanno inoltre rivolto l'attenzione ad altri virus potenzialmente utilizzabili come indicatori, quali *Adenovirus* (12), *Torque Teno Virus* (13) o *Pepper Mild Mottle Virus* (14). Tuttavia, per questi indicatori non sono state ancora acquisite sufficienti evidenze scientifiche a riguardo.

Bibliografia

1. Rusinol M, Girones R. Summary of excreted and waterborne viruses. Part three. Specific excreted pathogens: environmental and epidemiology aspects. In: Rose JB, Jiménez-Cisneros B (Ed.). *Global Water Pathogen Project*. Lansing, MI: Michigan State University, UNESCO; 2017.
2. La Rosa G, Fratini M, Della Libera S, Iaconelli M, Muscillo M. Emerging and potentially emerging viruses in water environments. *Ann Ist Super Sanità*. 2012;48(4):397-406.
3. 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.
4. La Rosa G, Suffredini E. *Adenovirus*. In: Dongyou Liu (Ed.). *Handbook of Foodborne Diseases*. Boca Raton: CRC press; 2018. p. 13-24.
5. Allard A, Vantarakis A. Adenoviruses. In: In: Rose JB, Jiménez-Cisneros B (Ed.). *Global Water Pathogen Project*. Lansing, MI: Michigan State University, UNESCO; 2017.
6. Katayama H, Vinjé J. Norovirus and other Calicivirus. In: Rose JB, Jiménez-Cisneros B (Ed.). *Global Water Pathogen Project*. Lansing, MI: Michigan State University, UNESCO; 2017.

7. La Rosa G, Pourshaban M, Iaconelli M, Muscillo M. Recreational and drinking waters as a source of norovirus gastroenteritis outbreaks: a review and update. *Environmental biotechnology* 2008;4(1):15-24.
8. Suffredini E, La Rosa G. Noroviruses in Italy. In: Romalde JL (Ed.). *Noroviruses: Outbreaks, Control and Prevention Strategies*. Nova Science Pub Inc; 2017. Chapter 2.
9. van der Poel W, Rzezutka A. Hepatitis A. In: Rose JB, Jiménez-Cisneros B (Ed.). *Global Water Pathogen Project*. Lansing, MI: Michigan State University, UNESCO; 2017.
10. van der Poel W, Rzezutka A. Hepatitis E. In: Rose JB, Jiménez-Cisneros B (Ed.). *Global Water Pathogen Project*. Lansing, MI: Michigan State University, UNESCO; 2017.
11. Ligon G, Bartram J. Literature Review of Associations among Attributes of Reported Drinking Water Disease Outbreaks. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(6):527.
12. Rames E, Roiko A, Stratton H, Macdonald J. Technical aspects of using human adenovirus as a viral water quality indicator. *Water Res*. 2016;96:308-26.
13. Charest AJ, Plummer JD, Long SC, Carducci A, Verani M, Sidhu JP. Global occurrence of Torque teno virus in water systems. *J Water Health*. 2015;13(3):777-89.
14. Symonds EM, Rosario K, Breitbart M. Pepper mild mottle virus: Agricultural menace turned effective tool for microbial water quality monitoring and assessing (waste)water treatment technologies. *PLoS Pathog*. 2019;15(4):e1007639.