

# Domanda

Codice: **FISR2020IP\_02614**

## Proponenti (Art. 2 Comma 1) e Costi (Art. 3)

---

Proponenti	A) Personale	B) Strumenti	C) Consulenze	D) Generali	E) Esercizio	Totale
<b>Università degli Studi di UDINE</b>	49.306,00	0,00	0,00	29.583,00	0,00	<b>78.889,00</b>
Totale	<b>49.306,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>29.583,00</b>	<b>0,00</b>	<b>78.889,00</b>

## Ambito e Area (Art. 1 Commi 2 e 4)

---

**Area** Physics and Engineering

**Ambito** Prevenzione del rischio, sviluppando soluzioni volte a contrastare e contenere gli effetti di eventuali future pandemie

## Idea progettuale (Art. 2 Comma 5)

---

**Acronimo** WBE-SET-SARS-CoV-2

**Durata in mesi** 6

**Titolo IT** Nuove procedure analitiche-idrauliche-cartografiche per l'epidemiologia basata sulle acque reflue (WBE) per il SARS-CoV-2: applicazioni a casi di studio territoriali.

**Titolo EN** New analytical-hydraulic-cartographic procedures for SARS-CoV-2 territorial wastewater-based epidemiology (WBE): a case study application.

**Descrizione della proposta (IT)** Introduzione La World Health Organization riconosce l'importanza di creare dei modelli predittivi e di prevenzione nei confronti delle malattie infettive, visto il loro pesante impatto globale. L'approccio One-Health in ambito di igiene ambientale permette di esaminare da un punto di vista multidisciplinare la diffusione di agenti virali o loro componenti tramite la rete delle acque reflue(1). L'epidemiologia basata sulle acque reflue (WBE) rappresenta uno strumento innovativo ed efficace per fornire informazioni in tempo reale sulla diffusione della pandemia di coronavirus. Alla luce dell'ampia diffusione del coronavirus a livello mondiale, una proposta di ricerca del virus e dei suoi componenti a livello ambientale trova utilità ai fini della comprensione della

disseminazione e in vista di eventuali futuri outbreaks(2). La presenza del virus nelle feci è stata riportata per la prima volta da Holshue(3). La percentuale dei pazienti con RNA virale fecale si aggira tra il 36% e il 53% dei casi positivi(4). La positività del campione fecale sembra permanere più a lungo rispetto a quella riscontrata nei campioni respiratori(5;6). Come è stato evidenziato in uno studio del 2005 relativamente all'epidemia di SARS(7), l'RNA di SARS-CoV secreto tramite feci di pazienti affetti può essere rilevato nel sistema fognario e ciò avviene anche per il SARS-CoV-2. Negli ultimi decenni si è potuto assistere ad una costante e continua evoluzione delle potenzialità offerte dalla modellistica numerica di tipo idrologico - idraulico nel poter simulare sempre più realisticamente il funzionamento delle reti fognarie così come i fenomeni di trasporto e propagazione delle sostanze inquinanti all'interno dei collettori fognari, compresi i microrganismi patogeni. Ciò rappresenta un valido ed innovativo approccio per poter simulare all'interno della rete fognaria l'andamento della concentrazione dei virus, in modo tale da poter ricostruire (anche attraverso l'applicazione dei cosiddetti problemi di tipo inverso) scenari previsionali relativi alla presenza di eventuali focolai diffusi su base territoriale. Per questi fini, grandi potenzialità sono fornite dall'utilizzo di sistemi GIS (Geographic Information System) basati su varie cartografie numeriche, eventualmente integrate con tecniche cartografiche di rilevamento(8). La maggiore criticità che deve attualmente essere risolta è la diluizione del virus nell'acqua reflua. Ne consegue che sia necessario concentrare grandi volumi di acqua prima di poter eseguire l'analisi. Diversi tipi di filtri e metodi sono stati usati per raccogliere e concentrare

particelle virali da campioni d'acqua(9), tuttavia il problema della concentrazione del virus rimane una problematica aperta. Lo scopo del presente progetto è di mettere a punto nuove procedure analitiche-idrauliche-cartografiche per avere riscontri importanti relativi alla WBE che possano facilitare il contenimento della diffusione della malattia. Obiettivi dello studio Proporre un protocollo analitico-idraulico-cartografico per la raccolta/analisi di campioni ambientali per il monitoraggio della presenza di SARS-CoV-2 in campioni di acque reflue per poter identificare in maniera tempestiva la presenza di nuovi focolai. Il progetto si focalizzerà prevalentemente su i) sviluppo di nuove tecniche analitiche di concentrazione del virus dalle acque per poter ottenere quantitativi facilmente rilevabili dalle tecniche di analisi attualmente utilizzate; ii) tecniche innovative di modellazione della propagazione del virus nelle reti fognarie. Fasi dello studio Modellazione numerica delle reti fognarie e rappresentazione cartografica territoriale Il presente progetto di ricerca si pone l'obiettivo sviluppare la modellistica numerica applicata alle reti fognarie per discretizzare il tessuto urbano a scala di singolo edificio (via, quartiere, ecc.) e quindi definire puntualmente anche le immissioni in rete delle acque reflue di origine civile/domestica. Consentirà perciò di ottenere uno strumento in grado di simulare nel dettaglio l'andamento delle portate reflue e delle relative concentrazioni di inquinante e/o agente patogeno dal punto di immissione in rete fino all'impianto di depurazione. Per il presente progetto di ricerca si intende utilizzare il codice di calcolo EPA-SWMM (Storm Water Model Management) distribuito dall'Agenzia di Protezione Ambientale Statunitense EPA (Environmental Protection Agency) che ad oggi

risulta essere considerato come uno standard a livello internazionale per la modellazione delle reti fognarie(10). Prelievo campioni acque reflue Il prelievo dei campioni è stato eseguito presso punti di prelievo a Udine e Cividale del Friuli il 15/02/2020 e dal 20/04/2020 al 15/05/2020, periodo in cui si registravano numerosi casi di COVID19. I campioni (500 ml) sono stati raccolti attraverso un prelievo composito giornaliero non proporzionale alla portata e sono attualmente conservati in freezer appositi alla temperatura di -80 °C e di -20 °C. Concentrazione dei campioni. La fase critica dello studio proposto, che necessita di essere sviluppata è la parte relativa alla concentrazione dei campioni per poter poi effettuare l'analisi degli stessi. A causa delle piccole dimensioni delle particelle virali, la filtrazione meccanica spesso non è possibile; pertanto, vengono impiegati metodi di adsorbimento-eluzione. L'adsorbimento-eluzione di virus con un filtro elettropositivo è una delle tecniche più comunemente usate(11). Tuttavia, i filtri elettropositivi si intasano facilmente, hanno bassi tassi di recupero dei virus e spesso il recupero dei virus non è sempre facile(11). I metodi di ultrafiltrazione richiedono invece una manipolazione minima dell'acqua; ma sono meno efficaci in termini di costi e di tempo rispetto all'eluzione di adsorbimento a causa dell'elevato costo delle apparecchiature e delle limitazioni sul volume del campione che possono essere concentrate contemporaneamente (11). In questo progetto ci proponiamo di sviluppare un metodo alternativo basato sull'adsorbimento su carboni attivi che riduca i tempi e i costi della concentrazione del virus, eviti problemi di intasamento e permetta di ottenere un buon tasso di recupero del virus. Il carbone attivo è costituito da una vasta gamma di

materiali carbonacei amorfi con un elevato grado di porosità ottenuta dalla combustione, combustione parziale o decomposizione termica. Vari studi hanno suggerito il potenziale del carbone attivo sull'adsorbimento del virus dalle acque reflue (11) ma attualmente non vi è ancora una metodica che permetta la concentrazione del virus attraverso questa tecnica in modo da poter poi essere analizzato per una analisi quantitativa. Il progetto si propone di testare varie tipologie di carbone attivo e sviluppare una procedura analitica che permetta un ottimo tasso di recupero del virus. Solo lo sviluppo di una tecnica analitica di concentrazione e una metodica validata applicata specificatamente al Sars-CoV-2 permetterà di analizzare i campioni precedentemente prelevati a fornire un database di riferimento per poter gestire una eventuale seconda ondata di diffusione del virus stesso. Analisi dei campioni I campioni verranno analizzati per la ricerca quantitativa di SARS-CoV-2, nel Laboratorio di Virologia dell'Ospedale SMM di Udine mediante RT-PCR quantitativa (RT-qPCR). Per raggiungere lo scopo della ricerca le metodiche di analisi potranno essere scelte tra quelle consigliate da ISS e dalle ricerche più recenti del settore. Analisi statistica I dati riscontrati dal laboratorio verranno inseriti in un apposito database su cui verranno condotte le analisi statistiche sia descrittive sia di regressione logistica per valutare correlazioni tra variabili. Sarà effettuata un'analisi descrittiva sui quantitativi di RNA rilevato nei diversi campioni. I dati così ottenuti forniranno una banca dati importante per la valutazione di successive ondate di diffusione del virus e permetteranno di individuare precocemente e circoscrivere nuovi focolai. La georeferenziazione dei dati campione permetterà opportune valutazioni ed

interpretazioni territoriali sulla diffusione. Risultati attesi: ottenere e validare un protocollo per la raccolta/analisi di campioni ambientali per l'analisi epidemiologia basata sulle acque reflue (WBE). Tale protocollo potrà servire per monitorare un'eventuale seconda ondata epidemica e controllare in tempo reale eventuali nuovi focolai. Il gruppo di ricerca coinvolgerà due dipartimenti, quello di Area Medica, in particolare ricercatori ed afferenti alla Scuola di Specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva, e quello di Ingegneria, permettendo di lavorare su aspetti multidisciplinari (tecniche analitiche, modellazione matematica, analisi virologica e indagini epidemiologiche). I proponenti inoltre hanno accesso tramite le strutture di appartenenza a laboratori attrezzati al raggiungimento degli obiettivi del progetto. Il progetto può partire al tempo zero e con ottime aspettative di successo. Il progetto si delinea su un arco temporale di 6 mesi. I primi 4 mesi serviranno per lo studio e lo sviluppo della migliore tecnica di concentrazione delle acque, i restanti due mesi saranno utilizzati per l'analisi dei campioni prelevati e l'analisi statistica-territoriale degli stessi.

BIBLIOGRAFIA 1. E. O'Brien et al., One Heal. 7 (2019) 100094. 2. WJ. Lodder et al., Appl Environ Microbiol. 78 (2012) 3800. 3. ML. Holshue et al., N Engl J Med. 382 (2020) 929. 4. Y. Tian et al., Aliment Pharmacol Ther. 51 (2020) 843. 5. JC. Zhang et al., J Med Virol. 92 (2020) 92(6) 6. Y. Wu et al., Lancet Gastroenterol Hepatol. 5 (2020) 434. 7. XW. Wang et al., World J Gastroenterol. 11 (2005) 4390. 8. JR. Nuckols et al., Environ. Health Persp. 112 (2004) 1007. 9. TT. Fong et al., Microbiol. Mol. Biol. Rev 69 (2005) 357. 10. R. Perin et al.,

Environ. Monit. Assess., 192 (2020) 374. 11. T. Powell, et al., Environ. Sci. Technol. 34 (2000) 2779.

**Descrizione  
della  
proposta  
(EN)**

Introduction The World Health Organization recognizes the importance of establishing predictive and prevention models for infectious diseases, underlining their heavy global impact. The One-Health approach in the field of environmental hygiene allows to examine from a multidisciplinary point of view the possible spread of viral agents or their components through wastewater(1). Wastewater-based epidemiology (WBE) could be an innovative and efficacy tools to provide real-time information on diffusion of the coronavirus pandemic. In light of the widespread diffusion of coronavirus worldwide, a research proposal of the virus and its components at an environmental level finds a rationale for the purpose of understanding the real dissemination and in view of any future outbreaks(2). Several studies reveal a systemic spread of the virus and the presence of the virus in feces has been reported for the first time by Holshue(3).The percentage of patients with fecal viral RNA is between 36% and 53% of confirmed cases(4). The positivity of the fecal sample for viral RNA appears to persist longer than that found in respiratory samples(5;6). As was shown in a 2005 study relating to the SARS(7) epidemic, SARS-CoV RNA secreted through the feces of affected patients can be detected in the sewage system and this also happens for SARS-CoV-2. In the last decades, a constant and continuous evolution of the potential of the hydrological - hydraulic numerical modelling has been achieved. It therefore makes possible the realistic

simulation of the functioning of the sewage system as well as of the phenomena of transport and propagation of polluting substances inside the sewage pipes, including pathogenic microorganisms. This represents a valid and innovative approach to be able to simulate the trend of virus concentration within the sewage network, so as to be able to reconstruct (also through the application of the so-called inverse problems) forecast scenarios relating to the presence of possible future outbreaks on a territorial basis. For these purposes, great potential is provided by the use of GIS (Geographic Information System) systems based on various numerical cartographies, possibly integrated with cartographic detection techniques(8). The main issue that currently needs to be resolved is the dilution of the virus in wastewater. Therefore, large volumes of water needs to be concentrated before analysis can be carried out. Different types of filters and filtration methods have been used to collect and concentrate viral particles from water samples(9), however, the issue of virus concentration remains an open challenge. The main purpose of this project is to develop effective and innovative analytical-hydraulic-cartographic procedures to obtain important findings relating to WBE which may allow to detect in real time the presence of new outbreaks and consequently facilitate the containment of the epidemic. Research objective Propose a protocol for the collection/analysis of environmental samples for monitoring the presence of SARS-CoV-2 in wastewater samples in order to promptly identify the presence of new outbreaks. The project will mainly focus on i) development of new analytical techniques for concentrating the virus from the waters in order to obtain quantities that are easily detectable by the currently

analysis techniques; ii) innovative techniques for modelling virus propagation in sewage networks. Workpackages Numerical modelling of sewage networks and territorial cartographic representation The present research aims to develop the numerical modelling applied to the sewage networks to discretize the urban framework on a single building scale (street, neighborhood, etc.) and therefore also promptly define the input of the waste water from the civil/domestic systems. It will therefore allow to obtain a tool for simulating in detail the trend of the waste flows and the relative concentrations of pollutant and/or pathogen from the point of entry into the network up to the treatment plant. For this research project we intend to use the EPA-SWMM (Storm Water Model Management) calculation code distributed by the United States Environmental Protection Agency (EPA) which today is considered to be an international standard for the sewerage modelling(10). Sampling of wastewtaer The sampling was carried out in Udine and Cividale del Friuli on 15th February 2020 and from April 20th 2020 to May 15th 2020, period with numerous people affected by COVID19. The samples (500 ml) were collected by daily composite sampling not proportional to the flow rate and are currently stored in freezers at the temperature of -80°C and -20°C. Concentration of the samples. The challenge phase of the proposed study is the concentration of the samples to make those suitable for quantitative analysis. Different types of filters and filtration methods have been used to collect and concentrate viral particles from water samples(11). Because of the small size of viral particles, mechanical filtration is often not possible; therefore, adsorption–elution methods are employed. Adsorption–elution of viruses with an

electropositive filter is one of the most commonly used techniques(11). However, electropositive filters are easily clogged, have low recovery rates for viruses and the recovery of viruses is not always easy(11). Ultrafiltration methods on the other hand require minimal manipulation of water; but are less cost and time effective than adsorption-elution because of the high cost of equipment and limitations on the volume of sample that can be concentrated at one time(11). In this project, we will develop an alternative method based on activated carbon that would reduce the time and cost of virus concentration and avoid blockage issues and led to obtain a high recovery rates for viruses. Activated carbon consists of a wide range of amorphous carbonaceous materials with a high degree of porosity and extended inter-particulate are obtained by combustion, partial combustion, or thermal decom-position. Various studies suggested the potential of activated carbon on virus adsorption from wastewater(11) but currently there is still no method that allows the concentration of the virus through this technique so that it can then be analyzed for a quantitative analysis. The project aims to test various types of activated carbon and develop an analytical procedure that allows an excellent virus recovery rate. Only the development of an analytical concentration technique and a validated method applied specifically to the Sars-CoV-2 will allow the analysis of the samples previously taken to provide a reference database in order to manage a possible second new outbreak of the virus itself. Samples analysis The samples will be analyzed for the quantitative search for SARS-CoV-2 in the Virology Laboratory of the SMM Hospital in Udine. The analysis will be carried out after adequate concentration of the water

samples, in order to make the presence of viral RNA traceable within them. An RT-PCR will be used together with Real Time PCR for the quantitative determination of viral RNA. To achieve the purpose of the research, the analysis methods can be chosen from those recommended by ISS and the most recent research in the sector. Statistical analysis The data found by the laboratory will be entered in a special database on which both descriptive and logistic regression statistical analyses will be conducted to evaluate correlations between variables. The data thus obtained will provide an important database for the evaluation of subsequent waves of virus spread and will allow early detection and circumscription of new outbreaks. The georeferencing of the sample data will allow appropriate territorial evaluations and interpretations on the diffusion. Expected results: obtain and validate a protocol for the sampling/analysis of environmental samples for epidemiology analysis based on wastewater (WBE). This protocol can be used to monitor a possible second epidemic wave and to promptly identify the presence of new outbreaks. The research team will involve Medicine, through researchers and associate of Hygiene and Public Health Residency Program, and Engineering departments allowing to work on multidisciplinary areas (analytical techniques, mathematical modelling, virological analysis and epidemiological investigations) . The proponents of the project have available well-equipped laboratories belonging to their departments that will favour the achievement of the ambitious goals proposed. The project can start at time zero with excellent expectations of success. The project is outlined over a 6-month period. The first 4 months will be used for the study

and development of the best water concentration technique, the remaining two months will be used for the analysis of the samples taken and the statistical-territorial analysis of the same. REFERENCES 1. E. O'Brien et al., One Heal. 7 (2019) 100094. 2. WJ. Lodder et al., Appl Environ Microbiol. 78 (2012) 3800. 3. ML. Holshue et al., N Engl J Med. 382 (2020) 929. 4. Y. Tian et al., Aliment Pharmacol Ther. 51 (2020) 843. 5. JC. Zhang et al., J Med Virol. 92 (2020) 92(6) 6. Y. Wu et al., Lancet Gastroenterol Hepatol. 5 (2020) 434. 7. XW. Wang et al., World J Gastroenterol. 11 (2005) 4390. 8. JR. Nuckols et al., Environ. Health Persp. 112 (2004) 1007. 9. TT. Fong et al., Microbiol. Mol. Biol. Rev 69 (2005) 357. 10. R. Perin et al., Environ. Monit. Assess., 192 (2020) 374. 11. T. Powell, et al., Environ. Sci. Technol. 34 (2000) 2779.

## Parole chiave

---

### IT

**Parola 1** modellazione idraulica-cartografica

**Parola 2** epidemiologia basata sulle acque reflue

**Parola 3** controllo nuovi focolai

**Parola 4** analisi di virus

### EN

hydraulic-cartographic modelling

wastewater-based epidemiology

identification new outbreaks

virus analysis

**Parola 5** carboni attivi

activated carbon

**Informazioni Personale (Art. 2 Comma 6)**

<b>Nome</b>	<b>Cognome</b>	<b>Codice fiscale</b>	<b>Email</b>	<b>Istituzione di di afferenza</b>	<b>Dipartimento di afferenza</b>
Daniele	Goi	GOIDNL65P15D962Y	goi@uniud.it	Università degli Studi di UDINE	DPIA
Domenico	Visintini	VSNDNC64C16G284L	domenico.visintini@uniud.it	Università degli Studi di UDINE	DPIA
Maria	Parpinel	PRPMRA65A58G888K	maria.parpinel@uniud.it	Università degli Studi di UDINE	DAME