



arpae
agenzia
prevenzione
ambiente energia
emilia-romagna



Monitoraggio nelle acque delle sostanze incluse nella watch list

Antimicrobicoresistenza (AMR).

L'approccio One Health al tempo della pandemia COVID-19

Webinar, 18-19 novembre 2021

Giuseppe Bortone

Obiettivi dell'intervento

- Inquadramento del tema AMR nel contesto ambientale
- Criteri dimensionamento e descrizione della rete di monitoraggio ambientale come base di conoscenza e supporto alle strategie di tutela e miglioramento degli ecosistemi acquatici
- Nella logica del “One Health”, rappresentare come questo sistema di conoscenza possa essere di supporto alla sorveglianza AMR “sanitaria”
- Quadro nazionale e europeo, rappresentato con la collaborazione di ISPRA

Ringrazio

Elisa Calabretta, Martina Bussettini, Francesco Mundo di ISPRA

Le mie colleghe Arpae Annamaria Colacci e Silvia Franceschini

Introduzione

- L'impatto che le attività umane hanno nel diffondere l'AMR nell'ambiente è oggetto di studio e ricerca
- Molto complesso stabilire quali siano gli effetti sulla salute umana e animale dell'esposizione continua e cumulativa nel tempo a microrganismi resistenti e residui di antimicrobici attraverso la matrice ambientale.
- Alcune evidenze indicano un ruolo importante dell'ambiente nella disseminazione di geni dell'antibiotico resistenza, in particolare il rischio può essere elevato in alcuni "hotspots" riconducibili a scarichi di impianti di trattamento reflui urbani, o laddove vengono collettati reflui provenienti da attività ospedaliere, industriali e zootecniche.
- In molti di questi casi gli effluenti possono rappresentare un vero e proprio "deposito" di geni della resistenza

Il monitoraggio ambientale

- È quindi fondamentale attuare un'attività di monitoraggio massivo e geograficamente significativo delle dinamiche di antibiotico-resistenza per meglio comprendere l'entità di questo problema
- Al fine di aumentare il livello di conoscenza sulla presenza di antimicrobici negli ambienti acquatici, la Rete nazionale di monitoraggio delle acque superficiali gestito dal Sistema nazionale a rete per la protezione dell'ambiente (Snpa) istituito ai sensi della legge 132/2016, è già operante nel monitoraggio delle concentrazioni di 5 antibiotici previsti dalla *Watch List* della Direttiva Quadro sulle Acque (*Water Framework Directive*)

Chi siamo

Legge istitutiva:
L. 132 del 28/06/2016

- Ispra – Istituto superiore per la protezione dell'ambiente
- 19 Arpa – Agenzie regionali per la protezione dell'ambiente
- 2 Appa – Agenzie delle province autonome per la protezione dell'ambiente



Il Sistema nazionale per la protezione dell'ambiente

Legge n. 132 del 28/06/2016

- Consiglio del Sistema Nazionale
- Catalogo Nazionale dei Servizi
- Lepta (Livelli essenziali delle prestazioni tecniche ambientali)
- Rete Nazionali dei Laboratori
- Controllo Ambientale (UPG)
- Referenti e depositari dei dati e informazioni ambientali



Il Sistema nazionale per la protezione dell'ambiente

I numeri delle Agenzie ambientali

- oltre **200** sedi
(Ispra, 2 Agenzie provinciali e 19 Agenzie regionali)
- **9.700** addetti ai lavori
 - 1 operatore ogni 6000 abitanti
 - 1 operatore ogni 200 kmq
 - 44% ispezione, monitoraggio e supporto tecnico (pareri)
 - 21% attività di laboratorio
- **100.000** ispezioni e sopralluoghi
- **74.000** istruttorie e pareri (+12% rispetto al 2006)
- **600.000** campioni analizzati
ogni anno (il doppio rispetto al 2006)



WFD: la rete di monitoraggio delle acque superficiali



Stazioni di monitoraggio SWB: 5867



Le sostanze prioritarie attualmente
normate per la valutazione dello
Stato Chimico (D.Lgs.172/15) sono
59. (totale stazioni: circa 5000)
Non ci sono antibiotici

Le Direttive europee

- Il monitoraggio ordinario è finalizzato alla definizione dello stato di qualità dei corpi idrici superficiali, sotterranei e costieri
- Le Direttive della CE (2008/105/EC, 2013/39/EU) definiscono gli Standard di Qualità ambientale (SQA) per le sostanze prioritarie e per alcuni altri inquinanti
- L'obiettivo è il raggiungimento dello stato di qualità "buono"
- Considerato l'elevato numero di inquinanti emergenti, viene definita una metodica rigorosa per concordare le priorità di monitoraggio.
- Procedura "**Watch List**" con un numero limitato di sostanze su cui viene effettuato un monitoraggio perlustrativo sull'intero territorio della UE per un periodo massimo di 4 anni
- Alla fine del periodo, le sostanze vengono incluse, qualora la valutazione del rischio sia positiva, nell'elenco del "monitoraggio ordinario" delle sostanze prioritarie

Criteri per la selezione

I criteri principali per l'inclusione nella "Watch List" sono:

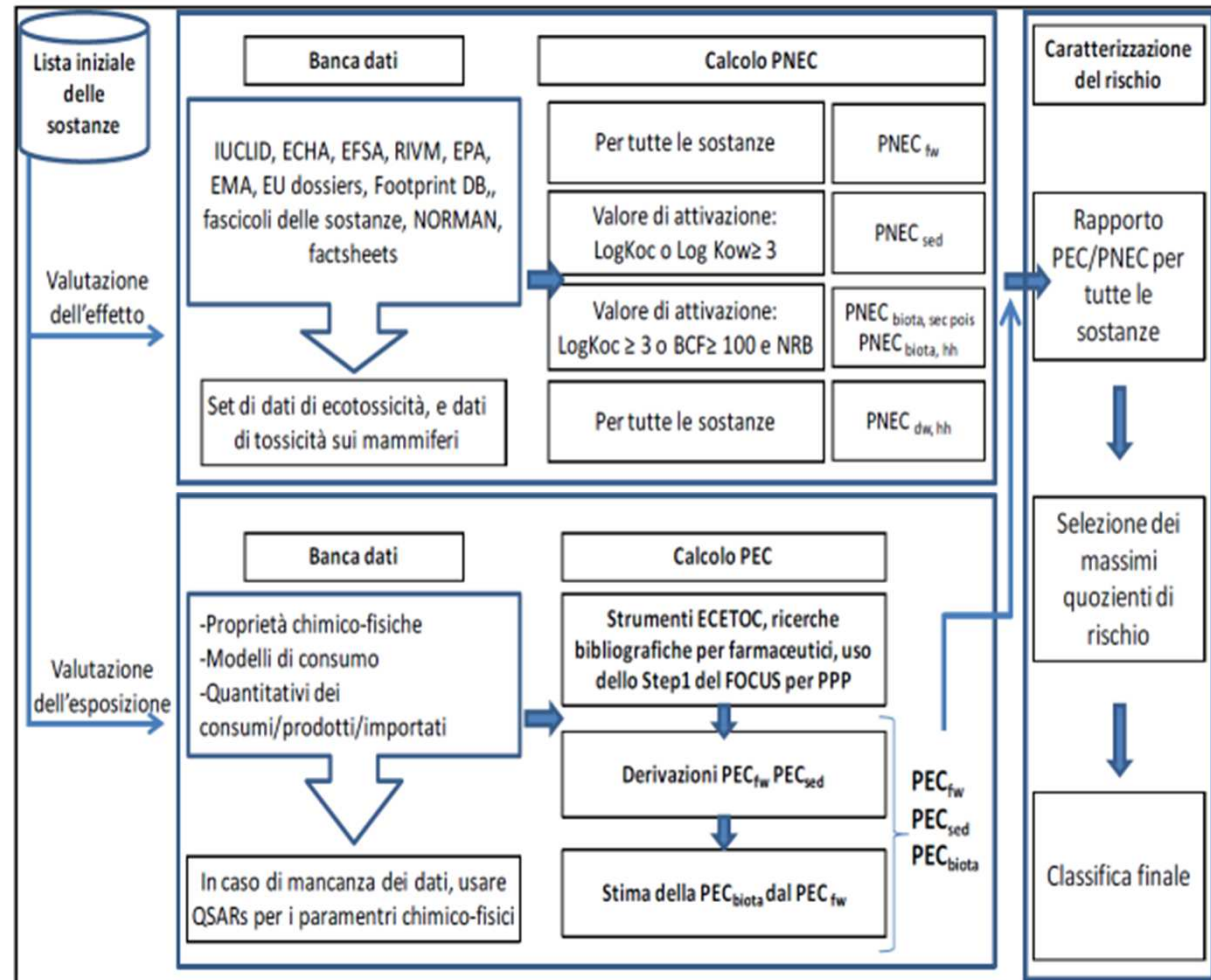
- la sostanza può rappresentare un significativo rischio per l'ambiente, per la salute umana, per gli organismi acquatici e i mammiferi, sussiste una significativa evidenza del rischio e di una possibile esposizione degli organismi acquatici e i mammiferi
- non c'è però sufficiente informazione per valutare l'esposizione a livello di UE, per insufficienti dati di monitoraggio dal punto di vista sia quantitativo che qualitativo, oppure a causa della mancanza di modelli di esposizione per decidere se rendere prioritaria la sostanza in esame

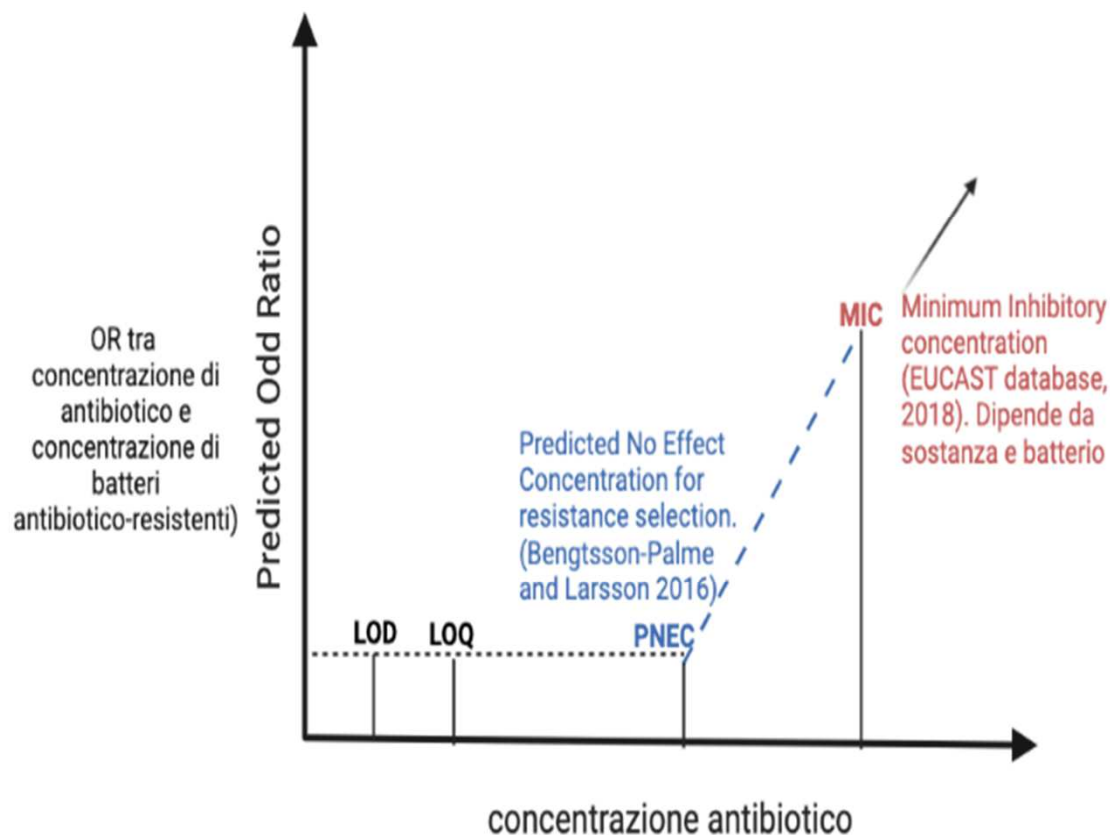
Gli altri criteri sono:

- la disponibilità di metodi analitici con sufficiente limite di rilevabilità e quantificazione coerente con le stimate concentrazioni ambientali (Predicted Environment Concentration – PEC) con le loro soglie di tossicità ecotossicità (Predicted Not Effect Concentration - PNEC)
- non sia previsto nell'immediato il bando della sostanza dall'utilizzo o produzione (verificate però le potenziali emissioni da sorgenti secondarie, import da mercati extra europei, ovvero sostanze PBT o vPvB)

Il metodo

- **PNEC**: Predicted No Effect Concentration
- **PEC**: Predicted Environmental Concentration
- Informazioni sulle esposizioni ambientali alle sostanze antimicrobiche non solo per tossicità e ecotossicità ma anche per AMR (quest'ultima in via di inclusione nella classificazione del rischio)





$$PNEC_{resistance} = \frac{MIC_{lowest}}{10}$$

MIC_{lowest} è il valore più basso ricavato dal dataset per una determinata sostanza.

Viene corretto in considerazione del numero di specie in cui è stato testato

MIC è un parametro strettamente correlato all'ampiezza del campione di ceppi batterici per il quale è stato calcolato. Per valori di MIC ricavati da un numero di specie inferiore a 40 bisogna operare un aggiustamento che tenga conto del ridotto numero di campioni

	PNEC resistance selection (ng/l)
Eritromicina	1000
Claritromicina	250
Azitromicina	250
Amoxicillina	250
Ciprofloxacina	64

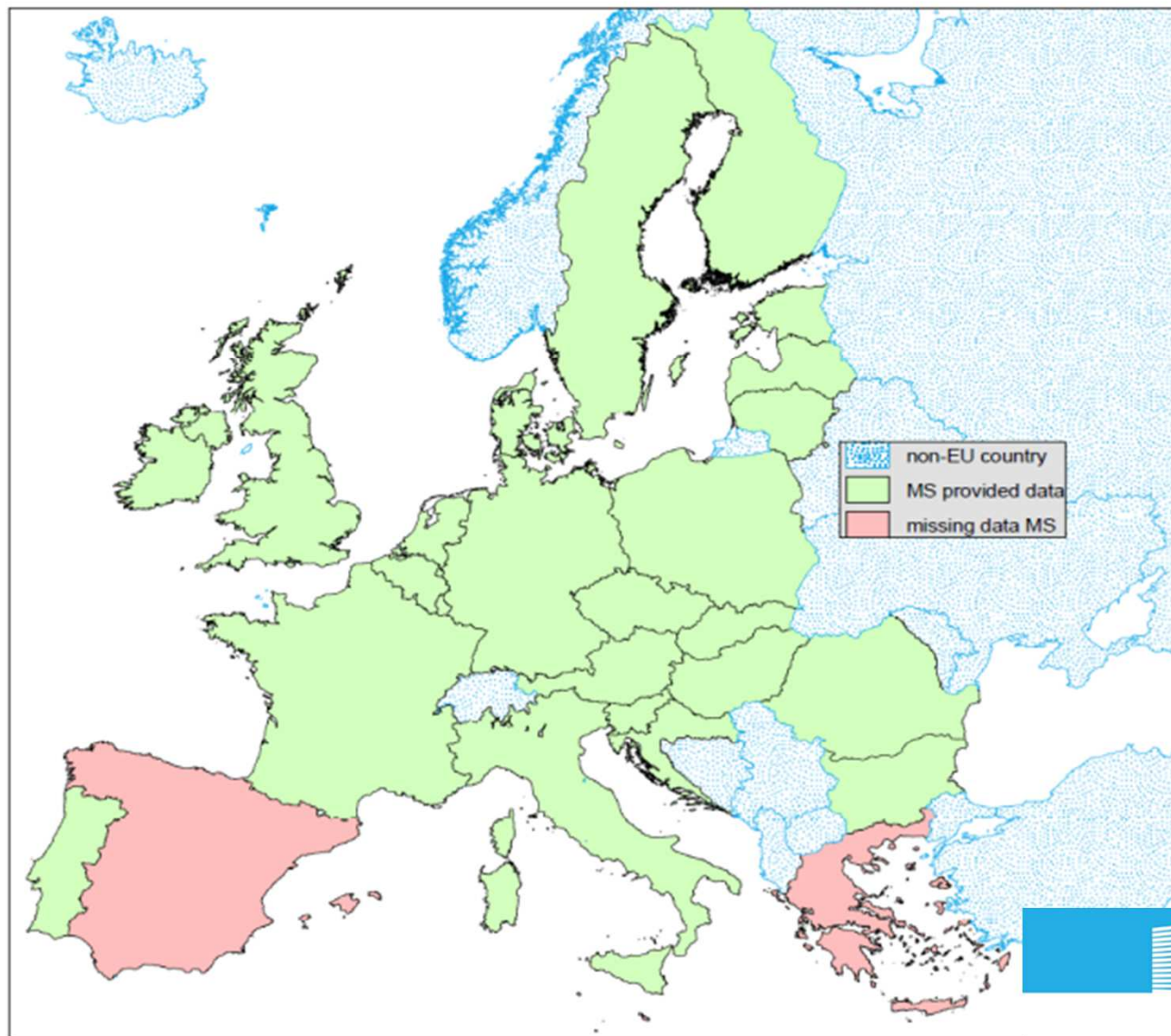
Prima e seconda Watch List

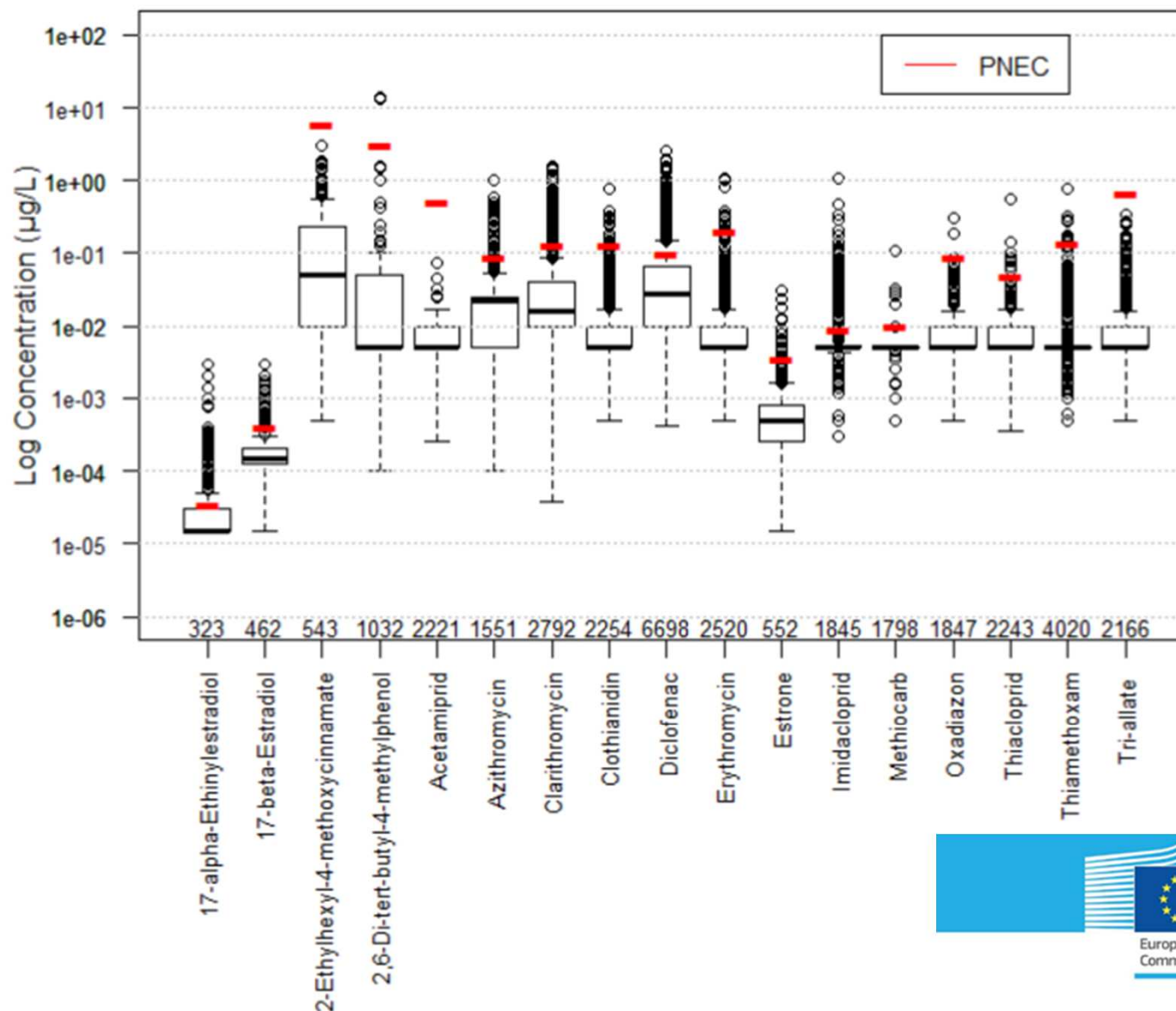
- Diclofenac (Antinfiammatorio)
- 17-Beta-estradiolo (E2), Estrone (E1) (Ormoni)
- 17-Alpha-ethinylestradiolo (EE2)
- Oxadiazon (Erbicida)
- Methiocarb
- 2,6-ditert-butyl-4-methylphenol (antiossidante)
- Tri-allate (Erbicida)
- Imidacloprid, Thiacloprid, Thiamethoxam, Clothianidin, Acetamiprid (Pesticidi)
- Erythromycin, Clarithromycin, Azithromycin
- 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate (Filtro solare)
- 2° WL: **Amoxicillin, Ciprofloxacin**

Incluse nell'elenco soprattutto per coerenza rispetto al "European One Health Action Plan against antimicrobial resistance"

Terza Watch List (2020)

- **Sulfamethoxazole** (CAS 723-46-6)
- **Trimethoprim** (CAS 738-70-5)
- Spesso rilevate nelle acque con aspetti di rischio per tossicità e ecotossicità diretta ma anche per la diffusione e la persistenza dell'AMR
- Dal 2021, **Amoxicillin e Ciprofloxacin – Sulfamethoxazole Trimethoprim**
- JRC: procedura di valutazione del rischio che includa la rilevazione dei geni dell'antibiotico resistenza (ARG) attraverso metodologie quantitative di qPCR e tecniche di sequenziamento





Il monitoraggio delle sostanze della lista di controllo è stato effettuato in conformità con le disposizioni di cui all'art. 78-undecies del D.Lgs 172/2015, coordinamento Ispra/Arpa-Appa



Codice stazione	Tipologia	Nome stazione	Long	Lat	ARPA/APPa
IT02DBL105	RW	Valle Discarica	7,392911	45,738737	Valle d'Aosta
IT01001160	RW	Po - Brandizzo	7,849008	45,172594	Piemonte
IT01001065	RW	Po - Carignano	7,690772	44,908683	Piemonte
IT03N0080447LO1	RW	Orio Litta	9,537	45,159	Lombardia
IT05206	RW	206 - Adige - Anguillara Veneta	11,883743	45,136771	Veneto
IT05181	RW	181 - Bacchiglione - Correzzola	12,06685	45,238557	Veneto
IT22PR000005	RW	Fiume Adige - Diga Enel - Mori	10,9971	45,8581	APPa Trento
IT2111115	RW	Ponte Vadena	11,314297	46,413334	APPa Bolzano
IT06UD92	RW	Fiume Ledra - Monte Nudo Andreuzza	13,088424	46,207495	Friuli Venezia Giulia
IT07CDCDFOCE	CW	T. Carenda	8,223473	44,071997	Liguria
IT07SCSC06E	RW	T. Scrivia	8,94214	44,629742	Liguria
IT0801000700	RW	Pontelagoscuro	11,601756	44,887613	Emilia Romagna
MAS-130	RW	Torrente Ombrone Pistoiese	11,05961	43,777112	Toscana
IT10TVR7	RW	A Monte Del Lago Di Corbara - Pontecuti	12,37	42,78	Umbria
IT11R1101916CH	RW	Chiusura Del Bacino Del Chienti, In Prossimità Della Foce	13,735	43,291	Marche
IT12-F4_06	RW	Fiume Tevere 5	12,473955	41,904936	Lazio
IT13R1311MR3A	RW	Fiume Moro - R1311mr3a	14,418667	42,322177	Abruzzo
ITR14_001_012_SS_4_T_A	RW	Biferno5	14,8941	41,8617	Molise
ITC9	RW	Calore Volturno	14,717997	41,152819	Campania
ITCA_IC07	RW	Foce Candelaro	15,8225	41,529727	Puglia
IT-017-CVRR01	RW	Bradano Loc.Terzo Cavone	16,727688	40,29766	Basilicata
IT017-BS-P09-F	RW	Bacino Del Basento	15,883318	40,655545	Basilicata
EC11VV	RW		15,900034	38,678259	Calabria
IT19R1903902	RW	Oreto Guadagna	13,3614	38,0978	Sicilia
IT19R1908003	RW	Ippari Foce T3	14,4824	36,8894	Sicilia
IT20B061CA	CW	Rio Mannu Di San Sperate - Decimomannu	9,161143	39,197412	Sardegna

Le stazioni sono state scelte:

- a valle di depuratori urbani
- in corpi idrici con pressioni di inquinamento diffuso dovuto ad agricoltura o allevamenti
- alla confluenza di più corpi idrici
- in corpi idrici utilizzati per la balneazione

Risultati monitoraggio WL - Antibiotici nelle acque superficiali e costiere italiane

SOSTANZA	N. DI RITROVAMENTI > LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)	N. DI RITROVAMENTI > LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)	N. DI RITROVAMENTI > LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)	N. DI RITROVAMENTI > LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)	N. DI RITROVAMENTI > LOQ	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/L)
	2016		2017		2018		2019		2020	
Eritromicina	1/36	20	0/28	-	0/21	-	4/24	6 - 38	1/25	7
Claritromicina	3/36	54 - 200	5/28	50 - 248	0/21	-	14/24	5 - 443,5	3/25	18 - 145
Azitromicina	4/36	20 - 459	6/28	14 - 264	0/21	-	9/24	5 - 489,7	5/25	24,6 - 221
Amoxicillina	-	-	-	-	-	-	3/22	17 - 88	2/25	140 - 310
Ciprofloxacina	-	-	-	-	-	-	5/23	24,5 - 206	2/25	218 - 1663

	PNEC resistance selection (ng/l)
Eritromicina	1000
Claritromicina	250
Azitromicina	250
Amoxicillina	250
Ciprofloxacina	64

Per la Regione Emilia-Romagna, l'andamento degli antibiotici analizzati a Pontelagoscuro

- risultano **tutti inferiori a LOQ**, con un solo valore di Claritromicina pari a LOQ
- modifica dei metodi con abbassamento LOQ dal 2019
- i valori sono espressi in ng/l

	Amoxicillina	Ciprofloxacina	Azitromicina	Claritromicina	Eritromicina
2016			<20	<20	<20
2017			<20	<20	<20
2018			<20	<20	<20
2019	<50	<50	<5	5	<5
2020	<50	<50	<5	<5	<5
2021	<50	<50			

Considerazioni finali

- Integrazione Ambiente/Salute - **One Health**
- Come trasformare una rete monitoraggio ambientale in **strumento di supporto alla prevenzione** sanitaria e/o sorveglianza sanitaria
- Potenziamento (aumento frequenza e stazioni, geni AMR) della rete di monitoraggio può essere funzionale al prossimo **PNCAR**
- **Integrazione con la rete di monitoraggio scarichi acque reflue** per circoscrivere “hotspot”, supportare valutazione scenari di intervento
- **Integrazione nella rete di sorveglianza epidemiologica di Sars-Cov-2 attraverso le acque reflue urbane** (progetto SARI, ISS);
Raccomandazione EC 2021/472: relativa a un approccio comune per istituire una sorveglianza sistematica del Sars-Cov-2 e delle sue varianti nelle acque reflue nell'UE - The EU Sewage Sentinel System for SARS-CoV-2