

# IL PROGETTO PULVIRUS

---

APRILE 2020 -  
OTTOBRE 2022

SINTESI DEI RISULTATI

---





# Indice

<b>Il progetto PULVIRUS e i metodi statistici di intervention analysis: i modelli additivi generalizzati .....</b>	<b>4</b>
<b>Il progetto PULVIRUS e i metodi statistici di intervention analysis: modelli Bayesiani e approccio INLA-SPDE .....</b>	<b>5</b>
<b>Il progetto PULVIRUS e i metodi statistici di intervention analysis: algoritmi di intelligenza artificiale .....</b>	<b>6</b>
<b>Come sono cambiate le emissioni inquinanti in Italia durante la prima ondata della pandemia COVID-19?.....</b>	<b>7</b>
<b>Il progetto PULVIRUS e i modelli di calcolo della qualità dell'aria: quali lezioni abbiamo appreso?.....</b>	<b>8</b>
<b>Il progetto PULVIRUS e la composizione del particolato (parte 1): come è stata influenzata dalle azioni contro la pandemia?.....</b>	<b>9</b>
<b>Il progetto PULVIRUS e la composizione del particolato (PARTE 2): le variazioni sono dovute alla meteorologia? .....</b>	<b>10</b>
<b>Il progetto PULVIRUS e gli inquinanti non convenzionali: come hanno risposto alla variazione delle sorgenti? .....</b>	<b>11</b>
<b>La qualità dell'aria in una zona residenziale nella città di Bologna: gli effetti delle misure di contenimento nelle fasi successive al lockdown .....</b>	<b>12</b>
<b>Tracce di RNA virale di SARS-CoV-2 sui filtri di PM<sub>2.5</sub> a Bologna? .....</b>	<b>13</b>
<b>Il progetto PULVIRUS: la riduzione delle emissioni antropiche legata al lockdown ha influenzato la concentrazione atmosferica di fondo di CO<sub>2</sub>?.....</b>	<b>14</b>
<b>Particolato atmosferico (PM<sub>2.5</sub>) come potenziale vettore di SARS-COV-2? .....</b>	<b>15</b>
<b>Esiste un'interazione biologicamente plausibile fra inquinamento atmosferico e la pandemia di COVID-19? .....</b>	<b>16</b>
<b>Il progetto PULVIRUS: protocolli operativi per il trattamento dei campioni di PM-SARS-COV-2 .....</b>	<b>17</b>
<b>Il progetto PULVIRUS: sistemi di allerta precoce .....</b>	<b>18</b>

## IL PROGETTO PULVIRUS E I METODI STATISTICI DI INTERVENTION ANALYSIS: I MODELLI ADDITIVI GENERALIZZATI

### LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

Per la valutazione dell'effetto del lockdown sulla variazione della concentrazione degli inquinanti, sono stati utilizzati i modelli statistici additivi generalizzati (Generalised Additive Models, GAMs) che consentono di normalizzare, a livello meteorologico, le serie storiche pluriennali delle concentrazioni degli inquinanti in atmosfera e di valutare il contributo nel tempo di specifiche variabili esplicative di tipo numerico o categoriale.

### COSA ABBIAMO APPRESO / LE RISPOSTE DI PULVIRUS

Il metodo utilizzato è molto efficace nel rilevare l'effetto del lockdown al netto del contributo della meteorologia. Permette anche di associare alle stime la relativa significatività statistica.

È stato possibile osservare e stimare quantitativamente a livello di singola stazione una significativa diminuzione dei livelli di  $\text{NO}_2$  su tutto il territorio italiano come effetto del lockdown nei mesi di marzo e aprile 2020. Per il  $\text{PM}_{10}$  il  $\text{PM}_{2.5}$  e l' $\text{O}_3$ , i risultati evidenziano un quadro generale di non significatività statistica dei contributi del lockdown alle concentrazioni dei quattro mesi considerati. Solo nel mese di Aprile 2020 per l'ozono è stato rilevato un contributo positivo localizzato prevalentemente nell'area settentrionale del Paese.

I risultati sono visualizzabili nella dashboard interattiva alla pagina:

[www.pulvirus.it/dashboard](http://www.pulvirus.it/dashboard)

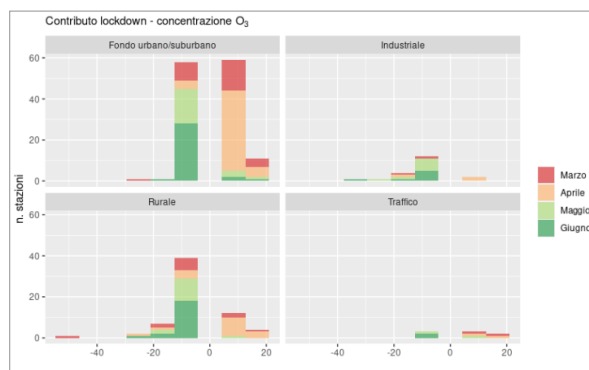


FIG. 1 Contributo medio mensile percentuale del lockdown alla riduzione della concentrazione di  $\text{O}_3$ .

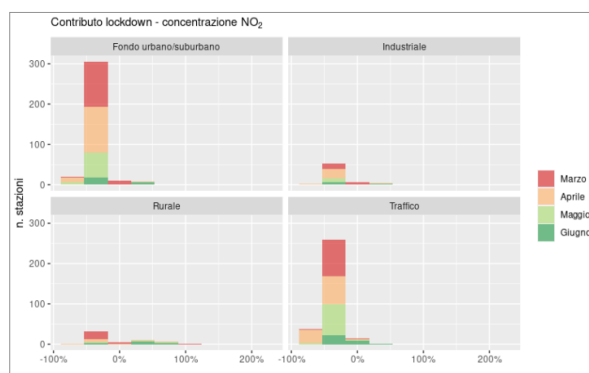


FIG. 2 Contributo medio mensile percentuale del lockdown alla riduzione della concentrazione di  $\text{NO}_2$ .

**Per maggiori informazioni:** Gianluca Leone - ISPRA [gianluca.leone@isprambiente.it](mailto:gianluca.leone@isprambiente.it) / Mariacarmela Cusano, Alessandra Gaeta, Alessandra Galosi, Giuseppe Gandolfo, Raffaele Morelli - ISPRA / Fabiana Scotto - ARPAE

## IL PROGETTO PULVIRUS E I METODI STATISTICI DI INTERVENTION ANALYSIS: MODELLI BAYESIANI E APPROCCIO INLA-SPDE

### LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

L'obiettivo è stato quello di sviluppare un framework metodologico per stimare in modo continuo nello spazio e nel tempo l'effetto del lockdown sulla qualità dell'aria.

L'obiettivo di ricerca è fondato sull'ipotesi che la disponibilità di mappe 2D di concentrazione ad alta risoluzione spaziale possa aiutare a valutare se l'effetto del lockdown sia stato omogeneo in una data area (ovvero a comprendere quale sia stato il grado di disomogeneità).

### COSA ABBIAMO APPRESO / LE RISPOSTE DI PULVIRUS

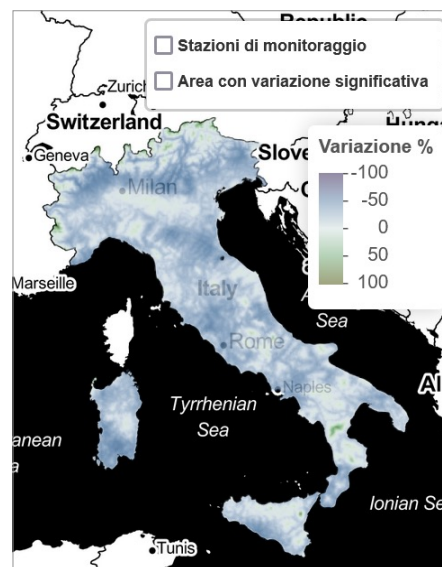
L'esercizio è stato condotto sull'inquinante biossido di azoto in quanto è stato chiaramente tra gli inquinanti per i quali le misure introdotte hanno determinato una significativa riduzione delle emissioni e per il quale quindi è attesa una significativa variazione attribuibile al lockdown.

In particolare, includendo una componente spaziale stocastica il modello sviluppato permette di tener conto della correlazione spaziale tra le osservazioni; le superfici di predizione così generate appaiono continue spazialmente e permettono di valutare l'effetto del lockdown, tenendo conto della meteorologia e di altri fattori confondenti, anche nelle aree remote o montuose dove non sono disponibili dati puntuali per la mancanza di stazioni di monitoraggio.

L'approccio modellistico usato può essere generalizzato allo studio di casi diversi da quello oggetto del progetto Pulvirus, ovvero qualora si sia interessati a valutare gli effetti su larga scala di misure di risanamento della qualità dell'aria.

Abbiamo dimostrato la possibilità di ottenere con il metodo proposto un quadro credibile e matematicamente quantificabile dell'evoluzione delle concentrazioni di  $\text{NO}_2$  in Italia al netto del fattore confondente della meteorologia.

La variabilità spazio-temporale delle concentrazioni di  $\text{NO}_2$  nei mesi di marzo e aprile 2020 rispetto agli stessi mesi del 2019 è illustrata mediante mappe spazialmente continue e normalizzate meteorologicamente su intervalli settimanali divise per giorni feriali e festivi.



<http://pulvirus.inla.isprambiente.it/>

**Per maggiori informazioni:** Guido Fioravanti - ISPRA [guido.fioravanti@isprambiente.it](mailto:guido.fioravanti@isprambiente.it)  
Giorgio Cattani - ISPRA / Michela Cameletti - Università di Bergamo, Bergamo, Italia / Sara Martino - Norwegian University of Science and Technology - Trondheim, Norvegia / Enrico Pisoni - Joint Research Centre, Ispra, Italia

## IL PROGETTO PULVIRUS E I METODI STATISTICI DI INTERVENTION ANALYSIS: ALGORITMI DI INTELLIGENZA ARTIFICIALE

### LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

L'uso di algoritmi di intelligenza artificiale negli studi di intervention analysis è ben descritto in letteratura e abbiamo colto l'occasione per sperimentare l'uso di modelli di Machine learning (ML), ed in particolare della tecnica "Random Forest" (RF). Per quantificare, al netto della variabilità indotta dalle condizioni meteorologiche, la variazione della concentrazione dei principali inquinanti determinata dai provvedimenti adottati per ridurre la diffusione del contagio, abbiamo confrontato i valori stimati da modelli RF in condizioni "business-as-usual" (BAU), ovvero i livelli che sarebbero stati osservati nel 2020 in assenza del lockdown, nelle condizioni meteorologiche reali, in ogni stazione di misurazione, con i livelli di concentrazioni effettivamente osservati.

### COSA ABBIAMO APPRESO / LE RISPOSTE DI PULVIRUS

Il metodo utilizzato è molto efficace nel rilevare l'effetto del lockdown al netto del contributo della meteorologia. Permette anche di associare alle stime la relativa significatività statistica ed è relativamente facile da implementare. Sconta tuttavia una generale tendenza a sovrastimare il dato per valori di concentrazioni bassi e di sottostimare per valori alti; questo comportamento è abbastanza comune in tutti gli algoritmi di ML che tendono a cogliere bene soprattutto i valori modali.

I risultati ottenuti con questo metodo sono in generale coerenti con quelli ottenuti con i modelli additivi generalizzati. L' $\text{NO}_2$  presenta una significativa diminuzione delle concentrazioni su tutto il territorio italiano, non solo durante il periodo del lockdown primaverile, ma anche in tutti i mesi da marzo in poi, a indicare un effetto anche delle misure di contenimento successive (riguardanti principalmente gli spostamenti). Una diminuzione di entità inferiore è mostrata da  $\text{C}_6\text{H}_6$  e CO, seppure in maniera disomogenea tra le diverse tipologie di centraline. Anche il particolato (PM10 e PM2.5) ha mostrato una diminuzione più contenuta e solo in alcuni mesi. E' interessante però notare come anche per questi inquinanti cali di diversa entità si siano osservati anche in molti mesi successivi al lockdown primaverile. Nessuna variazione significativa si è invece osservata per l' $\text{O}_3$ .



FIG. 1 Biossido di azoto - differenze percentuali tra concentrazione media stimata dal modello BAU e concentrazione media osservata (1 marzo - 30 aprile 2020)

## COME SONO CAMBIATE LE EMISSIONI INQUINANTI IN ITALIA DURANTE LA PRIMA ONDATA DELLA PANDEMIA COVID-19?

All'inizio del 2020, per fronteggiare la diffusione del virus SARS-CoV-2, i governi di diversi Paesi hanno adottato misure che hanno profondamente inciso sulla vita degli individui e delle comunità.

### CHE EFFETTO HANNO AVUTO TALI MISURE IN TERMINI DI VARIAZIONE DELLE EMISSIONI DI INQUINANTI ATMOSFERICI?

Investigare l'effetto di riduzione delle emissioni legato al primo stringente periodo di *lockdown* (febbraio - maggio 2020) in tutte le Regioni italiane è stata una delle finalità del progetto Pulvirus, durante il quale è stato elaborato un database con i fattori di riduzione giornalieri/settimanali o mensili per i settori maggiormente coinvolti dalle misure di *lockdown*.

I risultati del progetto hanno mostrato che il settore che ha maggiormente trainato la riduzione è stato il trasporto stradale, con una riduzione degli NO<sub>x</sub> totali di circa il 60%, del PM2.5 di circa il 66% e di circa l'87% per il CO totale. Il settore industriale ha maggiormente inciso sulla riduzione delle emissioni di SO<sub>x</sub> (circa 90%) e COVNM (circa 80%). Il settore residenziale/ terziario ha registrato un incremento delle emissioni di PM2.5, legato alla maggiore presenza delle persone nelle abitazioni e quindi ad un maggior utilizzo della biomassa (legna e pellet) per il riscaldamento. Il settore marittimo ha poi contribuito ad una riduzione delle emissioni di NO<sub>x</sub> di circa l'8% e di SO<sub>2</sub> di circa il 3%.

Il progetto ha fornito, inoltre, la variazione spaziale delle emissioni con risoluzione orizzontale di 4 km. A titolo di esempio, si riporta in Fig. 1 la variazione delle emissioni di NO<sub>x</sub>.

Maggiori dettagli disponibili sul sito del progetto, nella documentazione dell'[Obiettivo 2](#).

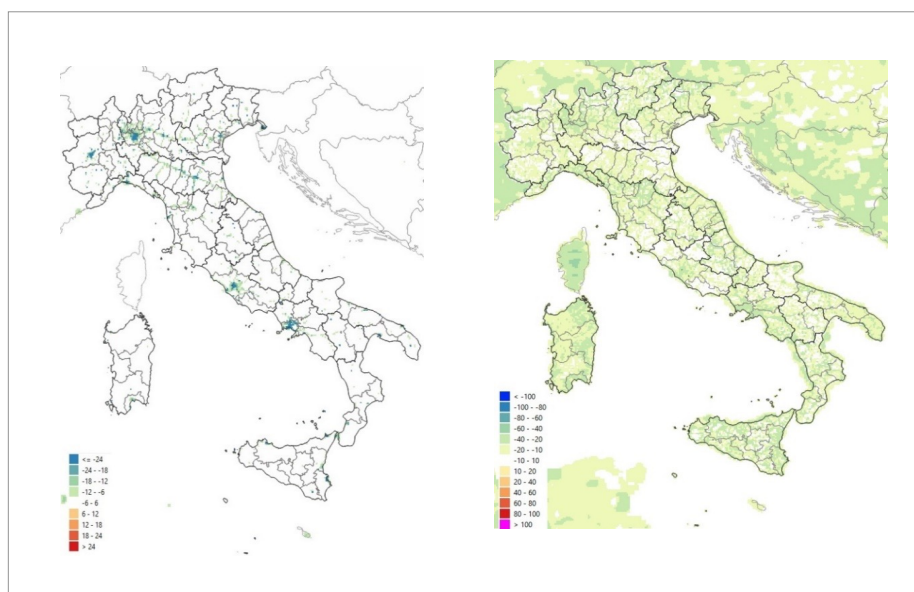


FIG. 1 Mappa della variazione cumulata, sul periodo 1 feb – 31 mag 2020, delle emissioni di NO<sub>x</sub> in valore assoluto (sx in Mg/cell) e in percentuale (a dx in %).

## IL PROGETTO PULVIRUS E I MODELLI DI CALCOLO DELLA QUALITÀ DELL'ARIA: QUALI LEZIONI ABBIAMO APPRESO?

Il progetto PULVIRUS ha fornito la prima valutazione dell'impatto sulla qualità dell'aria delle misure restrittive del periodo febbraio -maggio 2020 attraverso l'uso di modelli applicati all'intero territorio nazionale. I modelli utilizzati sono MINNI (ENEA) e kAIROS (ArpaE-SNPA), con una risoluzione spaziale orizzontale di 4 e 7 km, rispettivamente.

### I MODELLI DI QUALITÀ DELL'ARIA SONO IN GRADO DI RIPRODURRE L'EFFETTO DI SIGNIFICATIVE VARIAZIONI DELLE EMISSIONI INQUINANTI IN UN PERIODO TEMPORALE LIMITATO?

Per poter rispondere, le simulazioni prodotte dai due modelli sono state confrontate con i dati validi acquisiti da tutte le stazioni di monitoraggio della qualità dell'aria, mostrando risultati soddisfacenti. La modellistica permette perciò di prevedere con adeguata affidabilità gli effetti delle variazioni emissive sulle concentrazioni di inquinanti atmosferici.

### COME SONO VARIATE LE CONCENTRAZIONI DEGLI INQUINANTI? SI SONO EVIDENZIATI DIFFERENTI COMPORTAMENTI TRA GLI INQUINANTI?

Gli effetti del calo generalizzato delle emissioni sulle concentrazioni di inquinanti e sulle polveri sottili secondarie sono stati particolarmente complessi. Si sono osservati: un calo evidente di NO<sub>2</sub>, un aumento di ozono in aree urbane ed un calo modesto di polveri sottili.

### AI FINI DELLA PIANIFICAZIONE DELLA QUALITÀ DELL'ARIA, QUALE LEZIONE POSSIAMO TRARRE DA QUESTO STUDIO MODELLISTICO?

Lo studio ha mostrato che notevole attenzione deve essere prestata alla selezione di misure per contenere l'inquinamento atmosferico e che interventi mirati in un unico settore non necessariamente portano alle riduzioni di concentrazione auspiccate, soprattutto per quanto concerne le polveri sottili. Risulta, quindi, fondamentale l'adozione di un approccio integrato che consideri gli impatti dovuti alle emissioni in atmosfera nella loro totalità, piuttosto che singolarmente.

Maggiori dettagli disponibili sul sito del progetto, nella documentazione dell'[Obiettivo 2](#).

<https://www.pulvirus.it/index.php/documentazione-obiettivo-2/>

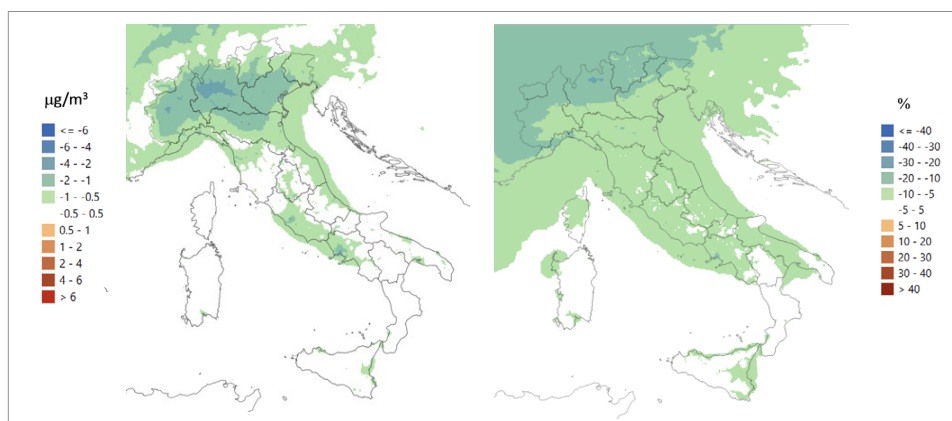


FIG. 1 PM2.5: variazioni concentrazione assoluta (sinistra) e percentuali (destra) per l'intero periodo.



## IL PROGETTO PULVIRUS E LA COMPOSIZIONE DEL PARTICOLATO (PARTE 1): COME È STATA INFLUENZATA DALLE AZIONI CONTRO LA PANDEMIA?

### LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

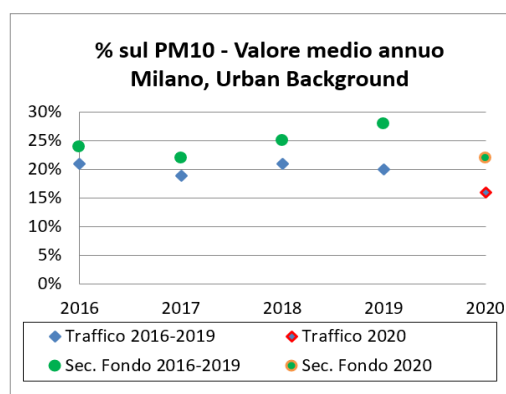
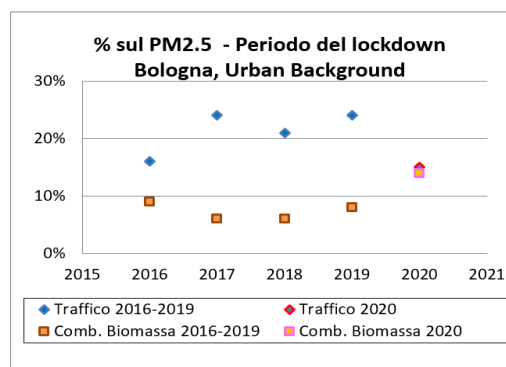
1. Essendo il particolato un insieme di sostanze diverse, come è cambiata la sua composizione durante il lockdown?
2. Le azioni vigenti dopo la fine del lockdown hanno mantenuto un effetto sulla composizione del particolato?

### LE RISPOSTE DI PULVIRUS

Durante il lockdown, non tutte le componenti del PM hanno risposto allo stesso modo. La frazione legata al traffico (ad es. EC, Cu, Fe, ...) ha mostrato un calo importante in confronto agli anni precedenti. Al contrario la parte di PM prodotta dalla combustione della legna è incrementata in molti siti, forse come conseguenza della maggiore quantità di tempo che le persone passavano in casa.

Le componenti legate ad emissioni antropiche sovra-regionali, continentali o di trasporto da remoto ( $\text{SO}_4^{2-}$ , V, ...) mostrano un calo che non combacia con il lockdown italiano, ma la loro diminuzione si nota considerando l'intera annualità.

In seguito alla fine del lockdown, la diminuzione della componente traffico, forse in seguito all'introduzione di attività come lo smart working, o per la persistenza di alcune limitazioni alle attività ludico/ricreative, è rimasta evidente, in alcuni siti e per alcuni inquinanti addirittura confrontabile con quella osservata nel periodo precedente.



**FIG. 1** Percentuale di PM attribuito a diverse origini in base ad analisi di source apportionment negli anni. In alto il traffico e la combustione di biomassa nel PM2.5 di Bologna durante il lockdown. In basso il traffico e il secondario di fondo nel PM10 di Milano sulla media di tutto l'anno.

Per maggiori informazioni: Report 2 - [Obiettivo 3](#) - [dbacco@arpae.it](mailto:dbacco@arpae.it)

## IL PROGETTO PULVIRUS E LA COMPOSIZIONE DEL PARTICOLATO (PARTE2): LE VARIAZIONI SONO DOVUTE ALLA METEOROLOGIA?

### LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

1. Come noto, la meteorologia ha un impatto sulla concentrazione degli inquinanti spesso predominante rispetto a quello imputabile alla variazione delle emissioni: le variazioni osservate nel 2020 rispetto agli anni precedenti sono da attribuire a una variabilità legata alla meteorologia o dipendono realmente dalle azioni attuate per limitare la pandemia?

### LE RISPOSTE DI PULVIRUS

Tramite modelli di machine learning (Random Forest) si sono stimate le concentrazioni di inquinanti attese in base alle condizioni meteorologiche verificatesi nel 2020 e in assenza delle misure restrittive messe in atto. La differenza tra le concentrazioni previste e quelle osservate si è considerata imputabile ai provvedimenti presi per limitare il diffondersi della pandemia.

Il carbonio elementare (EC), generato dalle combustioni, mostra cali tra il 25% e il 45% anche oltre la fine del lockdown in tutti i siti. Analogamente, ferro e rame, che derivano in parte o totalmente dal traffico, per un sito di traffico di Milano (PM10) avrebbero avuto un calo, rispettivamente, del 50% e del 70% nel periodo di lockdown e del 20% e del 30% circa per la media annua. Un segnale importante si osserva poi sul vanadio (nel PM2.5), legato a combustioni navali e a masse d'aria trasportate da aree distanti: il calo mostrato in tutto il 2020 risulta compreso tra il 50% e il 60% circa nei siti dell'Emilia-Romagna.

<https://www.pulviris.it/index.php/documentazione-obiettivo-3/>

Per maggiori informazioni: Report 2 - [Obiettivo 3](#)  
fscotto@arpae.it

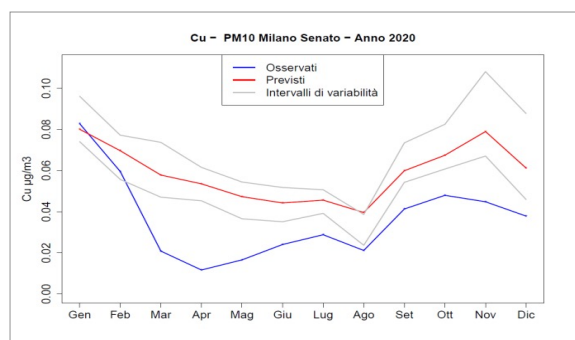
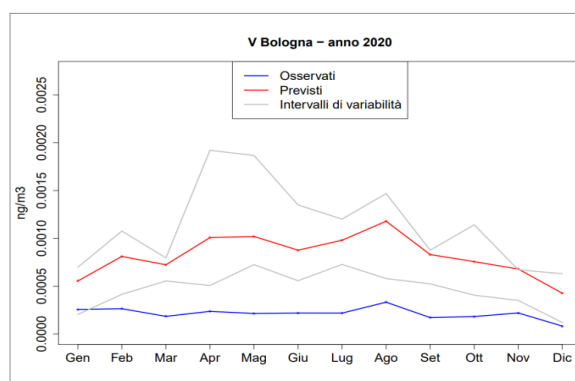
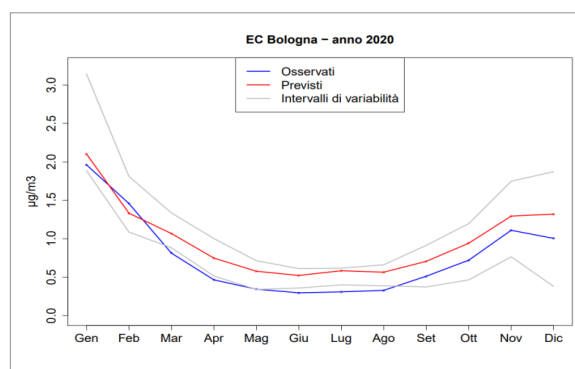


FIG. 1 Concentrazioni osservate confrontate con quelle previste in assenza di pandemia sulla base della meteorologia verificatesi nel 2020. In alto EC e al centro il vanadio in un fondo urbano di Bologna. In basso il rame in un sito di traffico di Milano.

# IL PROGETTO PULVIRUS E GLI INQUINANTI NON CONVENZIONALI: COME HANNO RISPOSTO ALLA VARIAZIONE DELLE SORGENTI?

## LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

1. Il black carbon è una misura on-line legata a una frazione carboniosa prodotta dalle combustioni, che informazioni ha fornito in seguito al *lockdown*?
2. L'ammoniaca, precursore dell'aerosol secondario, ha mostrato variazioni?

## LE RISPOSTE DI PULVIRUS

Il black carbon (BC) è definito come l'insieme delle particelle carboniose in grado di assorbire luce e descrive una frazione del particolato emessa dalle combustioni, principalmente traffico e biomassa con una risoluzione oraria delle misure. In certi casi è possibile suddividere l'informazione in funzione di queste due emissioni (BCff e BCbb). Questo ha permesso di evidenziare l'andamento opposto di queste sorgenti di particolato. In seguito al *lockdown* la parte legata al traffico è calata mentre quella legata alla combustione di biomassa ha mostrato, nei siti urbani, un aumento. L'ammoniaca è comunemente associata alle emissioni agricole, perché in media la componente legata ad altre sorgenti è trascurabile. Se però la si misura in un sito di traffico metropolitano, anche essa può mostrare una dipendenza importante dal traffico, come evidenziato dal calo misurato nei siti da traffico di Roma durante il *lockdown*, rispetto alla sostanziale invariabilità mostrata dai siti rurali della pianura padana.

<https://www.pulviris.it/index.php/documentazione-obiettivo-3/>

Per maggiori informazioni: Report 2 - [Obiettivo 3](#)  
atrentini@arpae.it

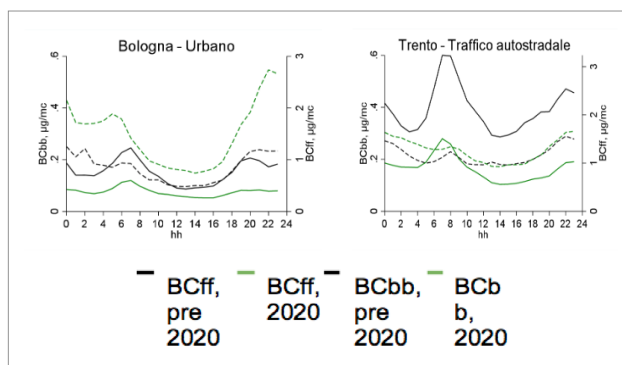


FIG. 1 Andamento giornaliero medio delle componenti del black carbon (BCff e BCbb) durante il lockdown e la media degli stessi periodi negli anni precedenti. A sinistra un fondo urbano di Bologna, a destra un sito di traffico autostradale di Trento.

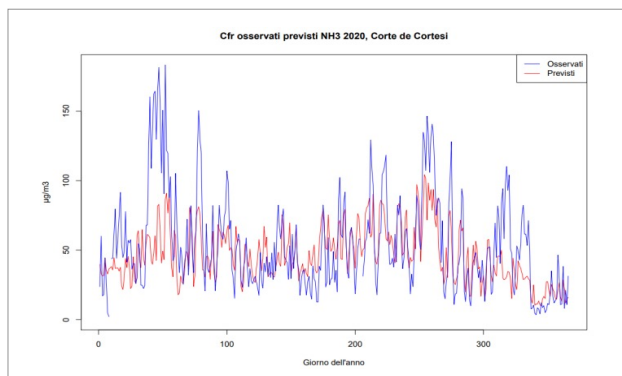
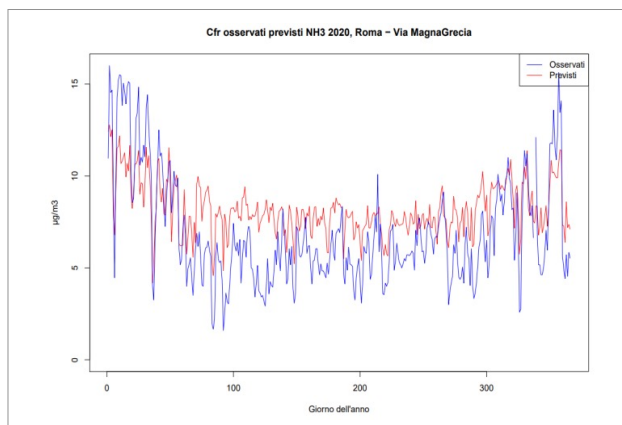


FIG. 2 Concentrazioni osservate confrontate con quelle previste in assenza di pandemia sulla base della meteorologia verificatasi nel 2020. In alto un sito di traffico di Roma, in basso un sito rurale del cremonese.

# LA QUALITÀ DELL'ARIA IN UNA ZONA RESIDENZIALE NELLA CITTÀ DI BOLOGNA: GLI EFFETTI DELLE MISURE DI CONTENIMENTO NELLA FASI SUCCESSIVE AL LOCKDOWN

Le misure adottate da marzo a maggio 2020 per il contenimento della diffusione del virus SARS-CoV-2 hanno determinato modifiche nello stile di vita e nelle abitudini delle persone con conseguente riduzione del traffico veicolare.

## QUALE EFFETTO HA AVUTO TALE CONTENIMENTO IN TERMINI DI QUALITÀ DELL'ARIA?

La riduzione della sorgente traffico si è tradotta in una riduzione delle concentrazioni medie giornaliere di *Black Carbon* (BC) (tracciante delle emissioni da traffico ma soprattutto inquinante con effetti sulla salute e sul clima) come mostrato dalle variazioni delle concentrazioni medie di BC nel periodo successivo al *lockdown* rispetto agli stessi periodi in anni precedenti (Figura 1).

La composizione chimica del particolato (Figura 2) ha mostrato variazioni percentuali in relazione alle misure restrittive dai DPCM messi in atto in quel periodo (Fasi 1-*lockdown* e 2 fino al 3 giugno, Fase 3 dal 4 giugno).

FASI 1 e 2: Nonostante la riduzione del traffico, tale sorgente rimane comunque preponderante per questo sito residenziale. L'analisi delle sorgenti emissive (con modello a retettore *Positive Matrix Factorization, PMF*) ha evidenziato come nella fase di *lockdown* la sorgente "traffico" fosse maggiormente rappresentata da emissione di motori diesel (Figura 3), verosimilmente in correlazione a veicoli per il trasporto merci su gomma: infatti, il settore della logistica è rimasto sempre in attività durante tutto il periodo.

**FASE 3:** con la ripresa della normale circolazione aumenta il numero di veicoli circolanti, in particolare quelli alimentati a benzina, come confermato dall'aumento delle concentrazioni di Benzene (tracciante del traffico veicolare in ambiente urbano), NOx e polveri da risospensione stradale (Road and Soil Dust, Figura 4).

Maggiori dettagli disponibili sul sito del progetto, nella documentazione dell'[Obiettivo 3](#).

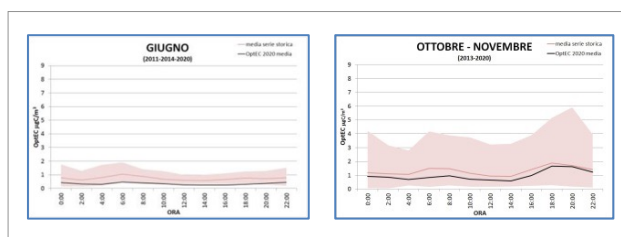


FIG. 1 Andamento giornaliero di BC a confronto con medie di serie storiche (max e minimi nella tonalità di rosa)

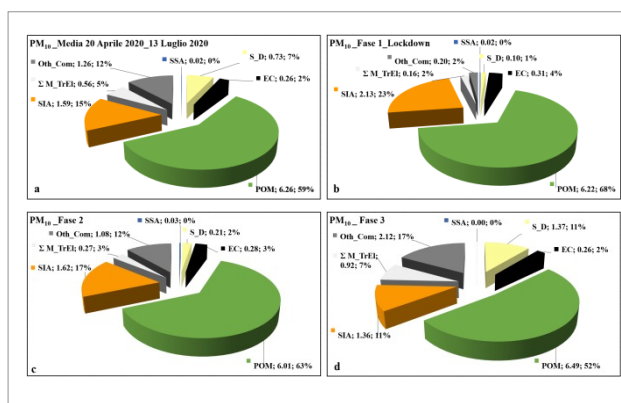


FIG. 2 Composizione media delle principali componenti del PM10 nell'intero periodo di campionamento

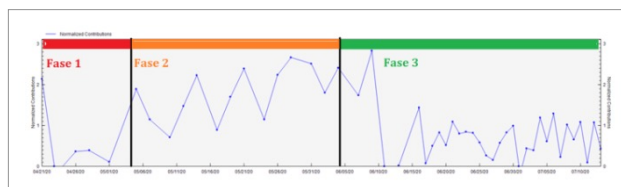


FIG. 3 Sorgente traffico DIESEL



FIG. 4 Sorgente ROAD AND SOIL DUST

Per maggiori informazioni: Teresa La Torretta, laboratorio Inquinamento Atmosferico – ENEA  
 teresa.latorretta@enea.it

## TRACCE DI RNA VIRALE DI SARS-COV-2 SUI FILTRI DI PM<sub>2.5</sub> A BOLOGNA?

### LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

In questi anni di pandemia, la letteratura scientifica ci ha fornito dati contrastanti circa la possibilità di rilevare la presenza del genoma virale di SARS-CoV-2 sui filtri per il campionamento del PM in ambiente outdoor.

Come si posiziona l'ENEA su questo tema?

### LE RISPOSTE DI PULVIRUS

**Campagna.** Effettuata a Bologna tra il 19 gennaio e il 6 febbraio 2021.

**Tipo di campioni.** Filtri di fibra di quarzo per il campionamento del PM<sub>2.5</sub>.

**Metodologia di analisi del genoma virale.** L'RNA genomico virale è stato estratto dai filtri mediante Trizol® (Thermo Fisher) associato a purificazione su Quick-RNA Miniprep Kit (Zymo Research), applicando un protocollo specifico, ottimizzato in ENEA, per aumentare resa, stabilità e integrità dell'RNA genomico. Dopo quantificazione spettrofotometrica al Nano-drop ND-100, l'RNA è stato retro-trascritto e analizzato mediante quantitative Real-Time PCR (qPCR, Eco-Illumina), utilizzando sonde specifiche per 3 geni virali [ORF-1a/b, proteina Spike (S) e proteina del Nucleocapside (N)] (TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1) di SARS-CoV-2 (Fig. 1A).

**Risultati.** Mediante qPCR, le tre sequenze virali sono state individuate in circa il 50% dei filtri di PM<sub>2.5</sub> analizzati (Tabella 1), sebbene con una diversa ed

eterogenea distribuzione. In particolar modo, nessuna delle tre sequenze è stata rilevata contemporaneamente su un unico filtro.

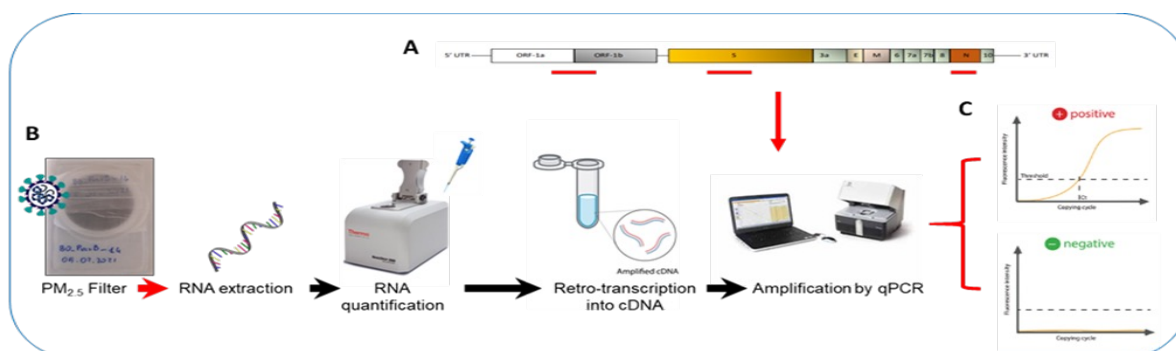
Il "workflow" dell'approccio sperimentale condotto è riportato in Fig. 1B. Il grafico di amplificazione dei campioni viene riportato in Fig. 1C dove sono stati considerati positivi (presenza del genoma virale) tutti i valori di CT compresi nell'intervallo tra 36 e 40 cicli di amplificazione.

**Conclusioni.** La presenza del genoma virale sui filtri per la raccolta del particolato nell'area di Bologna, nell'inverno 2021, non fornisce comunque alcuna informazione circa la virulenza e la capacità infettiva del virus SARS-CoV-2; ulteriori studi sono necessari per chiarire questo aspetto.

Tabella 1

Data Prelievo	Campione	ORF1a/b	S protein	N protein
19/01/2021	BO-PULVB-1			✓
21/01/2021	BO-PULVB-2			
22/01/2021	BO-PULVB-3			
23/01/2021	BO-PULVB-4	✓	✓	
24/01/2021	BO-PULVB-5	✓		✓
25/01/2021	BO-PULVB-6			
26/01/2021	BO-PULVB-7	✓		
27/01/2021	BO-PULVB-8	✓		
28/01/2021	BO-PULVB-9			
29/01/2021	BO-PULVB-10	✓		✓
02/02/2021	BO-PULVB-11	✓		
03/02/2021	BO-PULVB-12			
04/02/2021	BO-PULVB-13			
05/02/2021	BO-PULVB-14			
06/02/2021	BO-PULVB-15			

✓ = amplificazione (positività) della sequenza virale



## IL PROGETTO PULVIRUS: LA RIDUZIONE DELLE EMISSIONI ANTROPICHE LEGATA AL LOCKDOWN HA INFLUENZATO LA CONCENTRAZIONE ATMOSFERICA DI FONDO DI CO<sub>2</sub>?

Il propagarsi del virus SARS-CoV-2 ha indotto diversi paesi ad adottare politiche di contenimento che hanno profondamente influenzato le nostre abitudini, riducendo momentaneamente le emissioni antropiche dei principali gas ad effetto serra in tutto il mondo.

E' ormai scientificamente accertato che il riscaldamento globale è connesso alle emissioni antropiche di gas serra ed in particolar modo, ma non solo, a quelle di biossido di carbonio (o, con una vecchia notazione, anidride carbonica), CO<sub>2</sub>, e che solo la loro decrescita consentirà di limitare l'aumento globale della temperatura media e tutte le conseguenze associate.

E' stato proprio durante la fase più acuta delle restrizioni adottate dall'Italia nella primavera del 2020 che ci si è posti la domanda:

**la riduzione delle attività antropiche connesse al lockdown può influenzare la concentrazione di fondo di biossido di carbonio?**

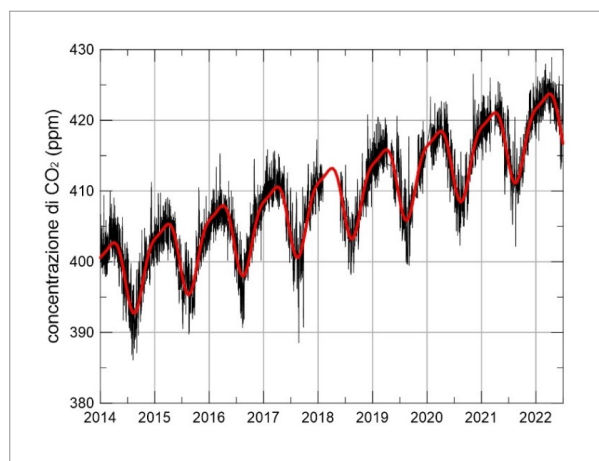
Anzitutto è bene specificare perché si parli della *concentrazione atmosferica di fondo* di CO<sub>2</sub>. I valori di fondo sono quelli rappresentativi di vaste regioni geografiche, perché non influenzati direttamente da sorgenti emissive locali. La diminuzione delle emissioni di CO<sub>2</sub> dovuta al lockdown, in particolare legata alla riduzione delle emissioni nei trasporti, è stata evidente ed ha avuto un effetto sulla concentrazione atmosferica nelle città. D'altra parte, i dati negli ambienti urbani non sono di particolare interesse per ciò che riguarda l'impatto sul clima globale; per questo impatto sono infatti fondamentali quelli relativi ai siti di fondo.

Per rispondere alla domanda si sono utilizzate le osservazioni della Stazione di Osservazioni climatiche ENEA di Lampedusa che, per le sue caratteristiche geografiche, è un ottimo sito rappresentativo del fondo del Mediterraneo centrale.

Nonostante le emissioni annuali di CO<sub>2</sub> si siano ri-

dotte rispetto al 2019 dell'8,9% a livello nazionale e del 5,4% a livello globale, l'aumento annuo della concentrazione atmosferica di CO<sub>2</sub> di fondo non ha subito variazioni evidenti rispetto al periodo precedente al lockdown.

La spiegazione del perché la riduzione delle emissioni non abbia influenzato in modo evidente la concentrazione atmosferica di fondo di CO<sub>2</sub> si può trovare sulle [News del progetto PULVIRUS](#). Inoltre, nella sezione dei documenti dell'[Obiettivo 4](#) vengono presentate e discusse le misure di CO<sub>2</sub> del 2020, ed in particolare del periodo di lockdown. L'analisi mette in evidenza l'importanza dell'origine delle diverse masse d'aria nel determinare la concentrazione osservata di CO<sub>2</sub>, anche in un sito lontano da rilevanti sorgenti emissive antropiche.



**FIG. 1** La linea nera mostra l'evoluzione temporale della concentrazione atmosferica di CO<sub>2</sub> misurata presso la Stazione di Osservazione climatiche ENEA di Lampedusa; la curva rossa rappresenta l'evoluzione "media" stimata dall'insieme di tutti i dati.

**Per maggiori informazioni:** Giandomenico Pace, laboratorio di Osservazioni E Misure per l'ambiente ed il clima – ENEA  
giandomenico.pace@enea.it

<https://www.pulviris.it/index.php/documentazione-obiettivo-4/>

## PARTICOLATO ATMOSFERICO (PM2.5) COME POTENZIALE VETTORE DI SARS-COV-2?

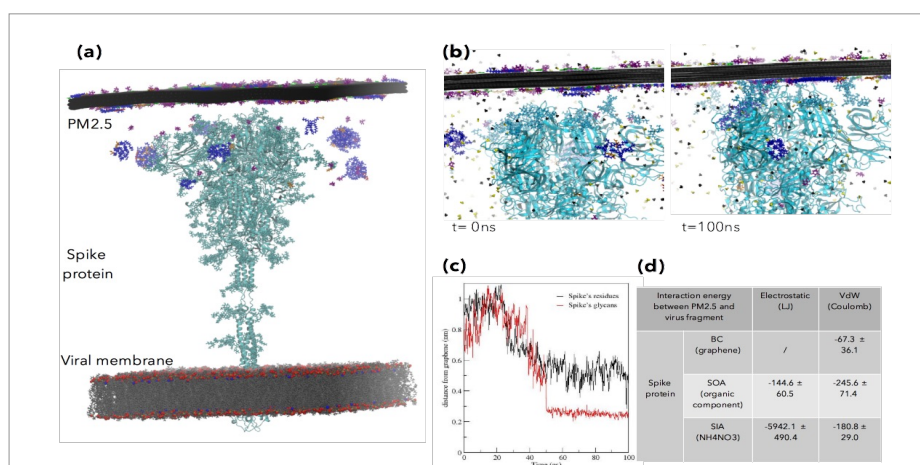
La possibilità che il PM possa agire da carrier nella trasmissione aerodispersa del virus SARS-CoV-2 è ancora oggi una questione controversa e oggetto di dibattito. Per rispondere a questa domanda, nel progetto PULVIRUS, i ricercatori ENEA hanno adottato un approccio *in silico*, basato sull'uso delle simulazioni numeriche di dinamica molecolare classica sfruttando il calcolo ad alte prestazioni (HPC) fornito da CRESCO6.

La strategia adottata in PULVIRUS è consistita nella realizzazione, a partire da modelli semplificati di PM2.5 e SARS-CoV-2, di una possibile interfaccia PM-virus (Fig. 1a). Per rappresentare il virus, è stato realizzato un frammento della membrana lipidica dell'involucro virale nel quale è stato inserito il modello strutturale della glicoproteina di superficie Spike. La costruzione del modello strutturale del PM2.5 ha richiesto uno sforzo di modellazione maggiore a causa delle scarsissime informazioni disponibili riguardo i modelli strutturali di aerosol secondario.

La simulazione dell'interazione virus-PM (Fig 1b) ha dimostrato, sulla base dell'analisi delle sole forze elettrostatiche e di quelle di van der Waals che **virus e particolato tendono ad interagire, che un ruolo importante viene giocato dagli zuccheri della proteina Spike (Fig. 1c) e che i componenti inorganici del particolato svolgono un ruolo di "legante" fra virus e parte carboniosa del PM (Fig. 1d).**

Il ruolo del PM come carrier pertanto non è da escludere e **tuttavia questo esperimento numerico non dice se il legame è stabile per tutta la durata dei processi di dispersione e trasformazione del PM in atmosfera e se lo stesso virus rimane vivo e attivo.**

Maggiori dettagli disponibili sul sito del progetto, nella documentazione dell'[Obiettivo 5](#).



**FIG. 1** (a) Modello dell'interfaccia PM2.5-SARS-CoV-2; (b) istantanee estratte dalla traiettoria di simulazione della durata totale di 100ns. Nelle immagini sono mostrati il foglietto di grafene (grigio) che mima il black carbon del PM, le molecole di benzo[a]pirene (rosso), acido palmitico (blu), acido ftalico (arancio), levoglucosano (porpora), acido ossalico (verde), NH4NO3 (nero e giallo), la proteina Spike (ciano) e i glicani (ciano chiaro); (c) distanze minime dal foglietto di grafene dei residui della proteina (linea nera) e dei glicani (linea rossa) in funzione del tempo di simulazione; (d) energie di interazione medie calcolate negli ultimi 50 ns di simulazione

**Per maggiori informazioni:** Caterina Arcangeli, Laboratorio Salute e Ambiente – ENEA [caterina.arcangeli@enea.it](mailto:caterina.arcangeli@enea.it)

<https://www.pulvirus.it/index.php/documentazione-obiettivo-5/>

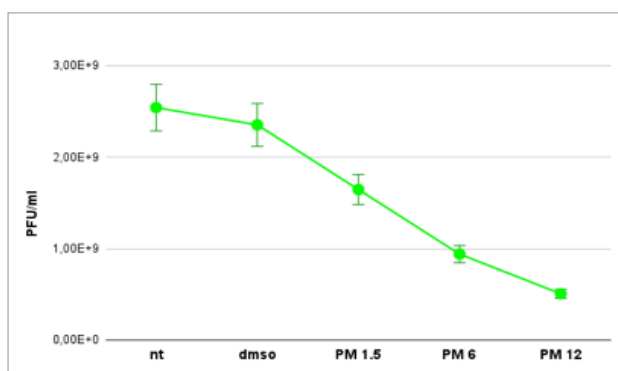
## ESISTE UN'INTERAZIONE BIOLOGICAMENTE PLAUSIBILE FRA INQUINAMENTO ATMOSFERICO E LA PANDEMIA DI COVID-19?

A marzo del 2020, nel pieno dell'espansione della pandemia COVID-19, la comunità scientifica ha iniziato a interrogarsi sul ruolo dell'inquinamento nella diffusione di SARS-CoV-2 e nella gravità della malattia indotta dal virus.

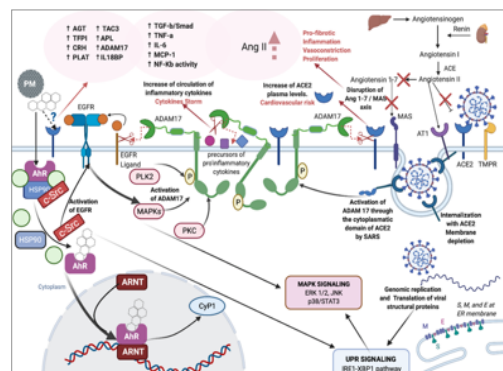
### Il virus interagisce direttamente con il particolato atmosferico? L'inquinamento influenza la gravità di COVID-19?

Una delle finalità del Progetto Pulviris è stata, dunque, quella di comprendere le interazioni tra virus e particolato atmosferico (PM) e se queste fossero plausibili dal punto di vista biologico. La plausibilità biologica, infatti, deve indirizzare ogni studio che intenda valutare una correlazione diretta tra una causa (esposizione) e un effetto (esito sanitario avverso). Sono stati allestiti modelli in silico e modelli biologici che consentissero di mettere in evidenza il ruolo di carrier o di booster del particolato. Per gli studi biologici è stato utilizzato un virus modello, che ben rappresenta SARS-CoV-2.

I risultati del progetto hanno mostrato che la componente organica del PM è fortemente tossica per il virus e ne riduce drasticamente la vitalità e la capacità di penetrazione all'interno della cellula ospite. Diversa è la situazione quando si considera il ruolo del PM nell'inasprire la gravità della malattia. I risultati ottenuti analizzando gli effetti a livello molecolare e cellulare indotti dal virus e dal PM hanno dimostrato che la componente organica del PM, responsabile come si sa, di patologie cardiovascolari, incide sugli stessi bersagli del virus. Di fatto, virus e PM inducono gli stessi effetti, in particolare nell'indurre quella tempesta di citochine, responsabile di uno stato infiammatorio degli organi interessati e, in particolare, del polmone, che costituisce l'organo bersaglio privilegiato sia del PM che del virus. Gli studi condotti su un modello cellulare di polmone hanno fornito delle specifiche risposte sul meccanismo con cui PM e virus possano interagire anche nel compromettere il tessuto endoteliale, che costituisce il rivestimento interno dei vasi sanguigni e del cuore. Si dimostra, quindi, che il PM svolge un ruolo di booster nella malattia COVID-19, ma che la contestuale presenza di PM e virus riduce la vitalità virale e la sua capacità infettiva. Il progetto ha consentito, inoltre, di approfondire la conoscenza dei meccanismi di azione del PM e di comprendere il suo ruolo nella malattia cardiovascolare.



**FIG. 1** Effetto del PM sulla vitalità del virus. Le concentrazioni di PM (componente organica) sono espresse in ppm. PFU = unità formanti placche/per volume, indica il numero di virioni infettanti. NT = cellule ospiti non esposte a PM. DMSO = dimetilossido, veicolo del PM



**FIG. 2** Interazione molecolare di PM e SARS-CoV-2 a sostegno dell'infiammazione in COVID-19. Negli ovali in alto è riportato l'elenco dei mediatori dell'infiammazione (citochine) prodotti sia da PM che dall'azione del virus. Ang II = angiotensina II, molecola chiave del sistema della regolazione della pressione, alterato sia da PM che da SARS-CoV-2



# IL PROGETTO PULVIRUS: PROTOCOLLI OPERATIVI PER IL TRATTAMENTO DEI CAMPIONI DI PM-SARS-COV-2

Lo scopo principale del Progetto PULVIRUS era quello dimostrare con evidenze scientifiche se il particolato atmosferico può aver contribuito alla diffusione di SARS-CoV-2. Per fornire tali evidenze scientifiche le attività sono state articolate in sei obiettivi con differenti quesiti da risolvere.

## LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

In particolare le attività del presente obiettivo (OB6 coordinato ISS), si sono concentrate su uno degli aspetti tecnici apparentemente semplice come il campionamento ambientale. Il campionamento è una procedura estremamente complessa e delicata che condiziona le operazioni successive e di conseguenza può compromettere la corretta interpretazione (attendibilità/affidabilità) dei risultati analitici. Viene eseguito da personale qualificato e costantemente aggiornato sulle procedure in materia.

A livello nazionale e internazionale, protocolli e norme di riferimento per il campionamento delle diverse matrici ambientali, alimentari e cliniche sono ben definiti per settori, cioè a seconda del tipo di analisi a cui devono essere sottoposte (chimiche, biologiche, fisiche).

Al contrario, non sono attualmente disponibili protocolli che possano essere applicabili per il campionamento misto, ovvero che tenga conto contemporaneamente dei requisiti per le determinazioni chimiche, biologiche e fisiche molecolari.

La domanda che ci siamo posti è la seguente: **“Le procedure per il campionamento il trasporto e la manipolazione di campioni di aria da sottoporre alla determinazione chimica del particolato atmosferico sono idonei e rispettano i requisiti per la determinazione degli acidi nucleici, nella fattispecie RNA?”**

## COSA ABBIAMO APPRESO: LE RISPOSTE DI PULVIRUS

L'attuale epidemia causata dal coronavirus (SARS-CoV-2) ha evidenziato l'urgente necessità di sviluppare e ottimizzare metodi per il campionamento e gestione dei campioni di aria per la determinazione del particolato atmosferico e di agenti infettivi quali virus a trasmissione aerea atti a rafforzare la gestione delle infezioni.

Sono stati elaborati due protocolli dedicati, partendo da quelli di riferimento per il campionamento di aria, da applicare solo nei monitoraggi di emergenza/indagine. Contengono le indicazioni necessarie per la preservazione e quindi per la determinazione dell'eventuale materiale genetico e/o agente infettivo da ricercare.

Obiettivo 6 Attività 6.1		Obiettivo 6 Attività 6.1	
Protocollo operativo a supporto del campionamento per il Caso studio Bologna OB3-OBS 2020		Protocollo operativo per la gestione dei filtri di aerosol atmosferico (outdoor e indoor) destinati alla caratterizzazione microbiologica, molecolare e chimica 2022	
<p>Lo scopo di questo protocollo è quello di definire le procedure da eseguire per la corretta manipolazione, trasporto e conservazione dei filtri utilizzati per il campionamento di polveri atmosferiche destinati al rilevamento degli acidi nucleici ed alla caratterizzazione chimica.</p> <p>Sommario</p> <p>Generalità ..... 2</p> <p>1. SCOPO E CAMPI DI APPLICAZIONE ..... 2</p> <p>2. RIFERIMENTI ..... 3</p> <p>3. DEFINIZIONI ..... 4</p> <p>4. ATTREZZATURE E MATERIALI ..... 5</p> <p>5. MODALITÀ OPERATIVE ..... 5</p> <p>5.1 Raccomandazioni generali ..... 5</p> <p>5.2 Preparazione e manipolazione dei filtri di campionamento ..... 7</p> <p>5.3 Preparazione del materiale, campionamento conservazione ..... 7</p> <p>5.4 Trasporto ..... 8</p> <p>5.5 In laboratorio ..... 8</p> <p>5.6 Smaltimento del materiale ..... 9</p> <p>5.7 Sicurezza e Formazione dell'operatore ..... 9</p>		<p>Lo scopo di questo protocollo è quello di fornire una procedura unica per la raccolta, il trasporto, la conservazione e la manipolazione dei filtri di aerosol (campionamenti outdoor e indoor) destinati alla determinazione degli acidi nucleici e/o microrganismi, oltre che alla caratterizzazione del particolato atmosferico.</p> <p>Sommario</p> <p>Generalità ..... 2</p> <p>1. SCOPO E CAMPI DI APPLICAZIONE ..... 2</p> <p>2. RIFERIMENTI ..... 2</p> <p>3. DEFINIZIONI ..... 3</p> <p>4. ATTREZZATURE E MATERIALI ..... 4</p> <p>5. MODALITÀ OPERATIVE ..... 5</p> <p>5.1 Tipologie di filtri e acoriamenti di campionamento ..... 5</p> <p>5.2 Preparazione e manipolazione dei filtri di campionamento ..... 6</p> <p>5.3 Messa in opera dei campionatori e dei filtri, raccolta e conservazione dei campioni ..... 6</p> <p>5.4 Trasporto e conservazione ..... 7</p> <p>5.5 Metodi di analisi ..... 7</p> <p>5.6 Smaltimento del materiale di campo ..... 7</p> <p>5.7 Come evitare la contaminazione RNAi ..... 8</p>	

**Per maggiori informazioni:** Stefania Marcheggiani ISS stefania.marcheggiani@iss.it / ISS L Mancini, C. Puccinelli, F. Chiu-dioni, AM D'Angelo, E.M. Soggiu, G. Settimo, M. Inglesis, ENEA / F. Pacchierotti. ISPRA / F. De Maio, Emilia A. Colacci. ARPA Veneto / C. Visentin, S. Fuser, ARPA Lombarida / G. Lanzani C. Colombi U. De Santo, V. Giannelle. ARPA Lazio / S. Listrani, E. Riva, D. Occhiutto F. Bontaggio.

## IL PROGETTO PULVIRUS: SISTEMI DI ALLERTA PRECOCE

### LE DOMANDE DA CUI SIAMO PARTITI

I sistemi di allerta precoce sono utilizzati per identificare attraverso attività di monitoraggio e/o sorveglianza, dedicate alla presenza di stati di pericolosità, dovuti al rischio di esposizione, e considerati prima che si rendano visibili i loro effetti su una popolazione.

I sistemi di allerta precoce possono realizzarsi attraverso l'integrazione di informazioni e dati di diversi settori.

Hanno un ruolo nella prevenzione della sanità pubblica poiché sono strumenti di comunicazione e di informazione sui rischi imminenti alle quali una popolazione può essere esposta prima del verificarsi dell'evento.

Essi consentono:

- l'individuazione precoce del rischio;
- sono propedeutici allo sviluppo di analisi di rischio e dei sistemi predittivi (scenari).

Tali strumenti predittivi sono molto utilizzati in campo ambientale per la definizione degli scenari quali:

- innalzamento delle temperature;
- inquinati atmosferici;
- fioritura di pollini;
- ondate calore e/o esposizione ai raggi UV.

Alla luce di quanto premesso, l'obiettivo 6.2 si è posto le seguenti domande:

È possibile costruire un Sistema di Allerta Precoce Predittivo della circolazione in questo caso virale basato sulle osservazioni ambientali derivanti dal monitoraggio della qualità dell'aria e dalle attività di ricerca di PULVIRUS?

Le informazioni raccolte sulla circolazione di agenti biologici (in questo caso virus) nell'aria potrebbero essere propedeutiche alla definizione della probabilità di insorgenza (hot spot) o re/insorgenza dell'infezione in una determinata area?

### COSA ABBIAMO APPRESO: LE RISPOSTE DI PULVIRUS

La fattibilità di un Sistema di Allerta Precoce è plausibile a valle di due assunti:

- l'individuazione precoce dell'agente infettivo, in questo caso, SARS-CoV-2, responsabile della minaccia. Che nel caso ambientale si verifica a valle dell'aumento dell'incidenza dei malati che siano essi umani o animali.
- Il tipo d'interazione che ha l'agente infettivo SARS-CoV-2 in questo caso il particolato atmosferico.

È possibile costruire un Sistema Allerta Precoce prendendo in considerazione i dati prodotti nell'ambito del Progetto PULVIRUS.

Lo schema utilizzato della proposta è quello introdotto dalla Conferenza internazionale di Allerta precoce, basato su quattro elementi: Conoscenza del rischio; Monitoraggio e Sistema di allarme; Divulgazione e Comunicazione; Capacità di risposta.

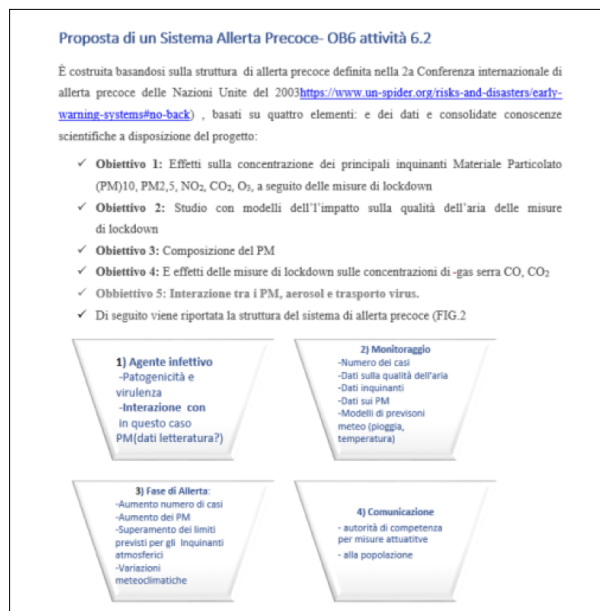


FIG. 1 Proposta del sistema di allerta precoce per la circolazione virale nell'aria

Tuttavia siamo in fase di verifica sull'efficacia poiché maggiori evidenze scientifiche sono necessarie per rispondere al secondo quesito.

