

Univerzitet u Novom Sadu
Prirodno-matematički fakultet
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine
Udruženje za unapređenje zaštite životne sredine „Novi Sad“
Fondacija "Docent dr Milena Dalmacija"



PRISUSTVO SARS-COV-2 U OTPADNOJ VODI I RIZIK PO ZDRAVLJE POPULACIJE

Doc. Dr Nataša Dragić

Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet
Institut za javno zdravlje Vojvodine

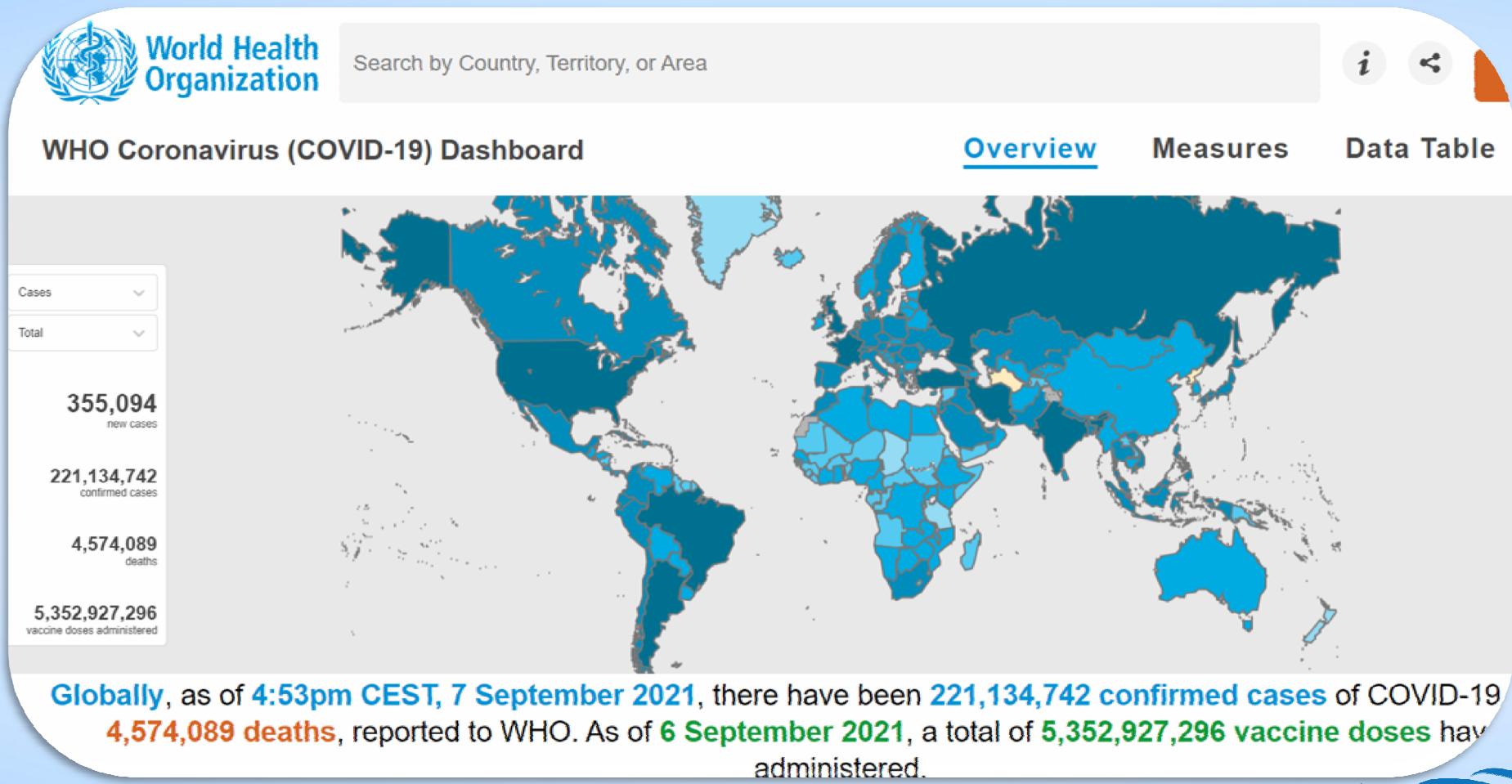
Novi Sad 8-10. septembar, 2021.



Pandemija COVID-19: 11. mart 2019.



Water Workshop 2021



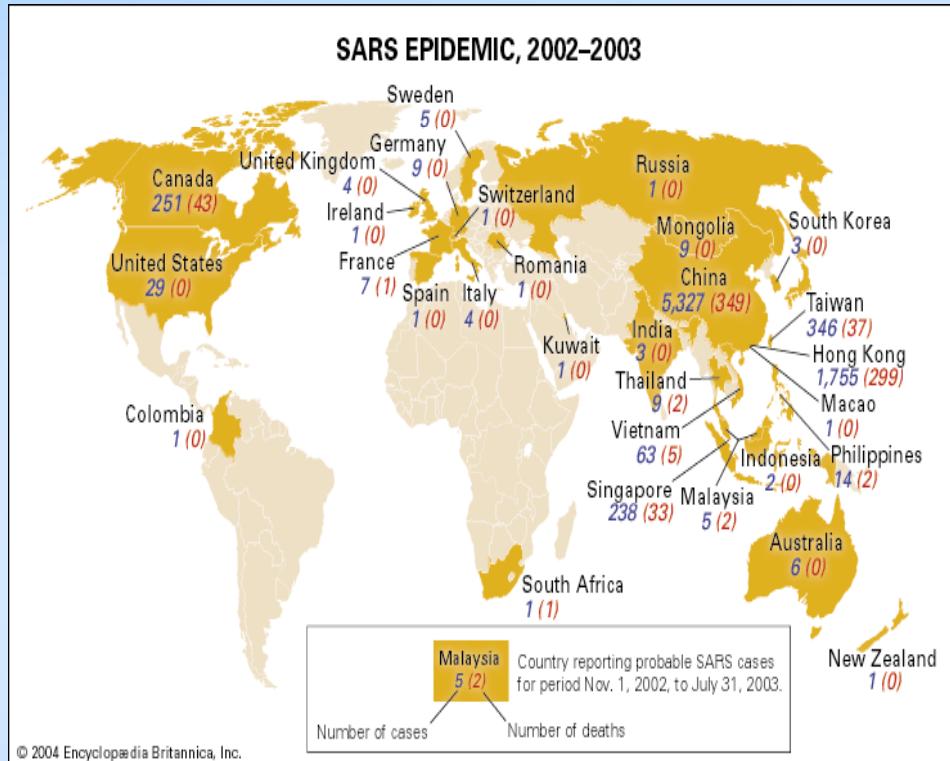
Pandemije 21 veka: SARS (SARS-CoV-1); MERS (MERS-CoV) i COVID-19 (SARS-CoV-2)

WW

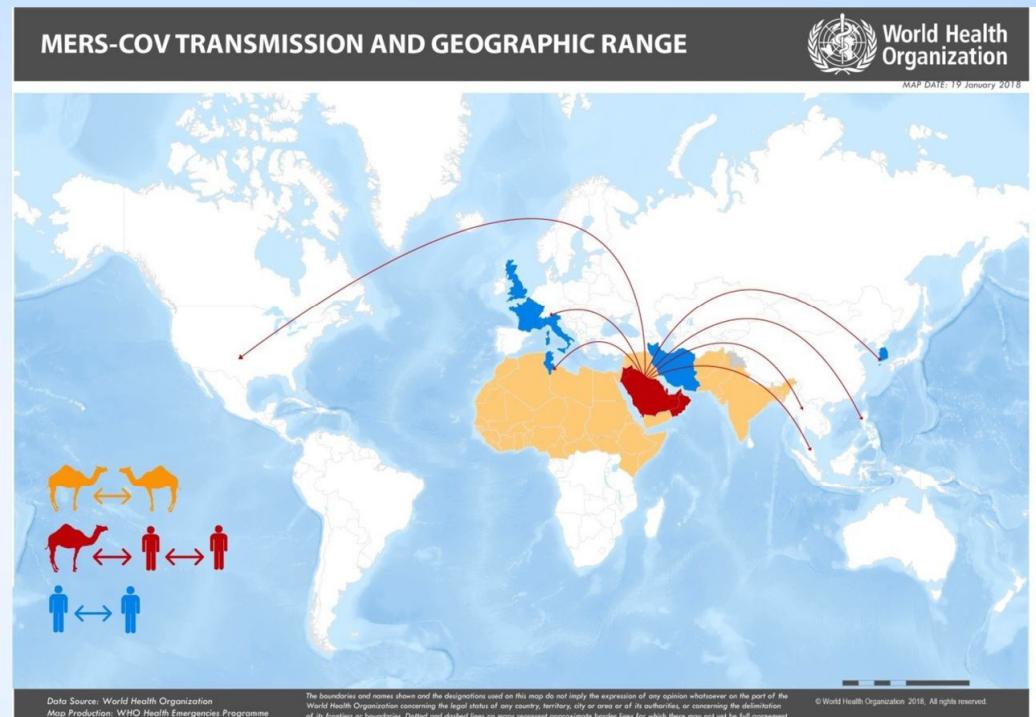


World Health Organization

Map Date: 19 January 2018



Prva epidemija u dvadeset prvom veku. Izbijanje teškog akutnog respiratornog sindroma (SARS) uzrokovaniog SARS-CoV-1 trajalo je manje od godinu dana, od novembra 2002. do juna 2003. godine, i rezultiralo je sa 8422 zaražena slučaja i 916 smrtnih slučajeva

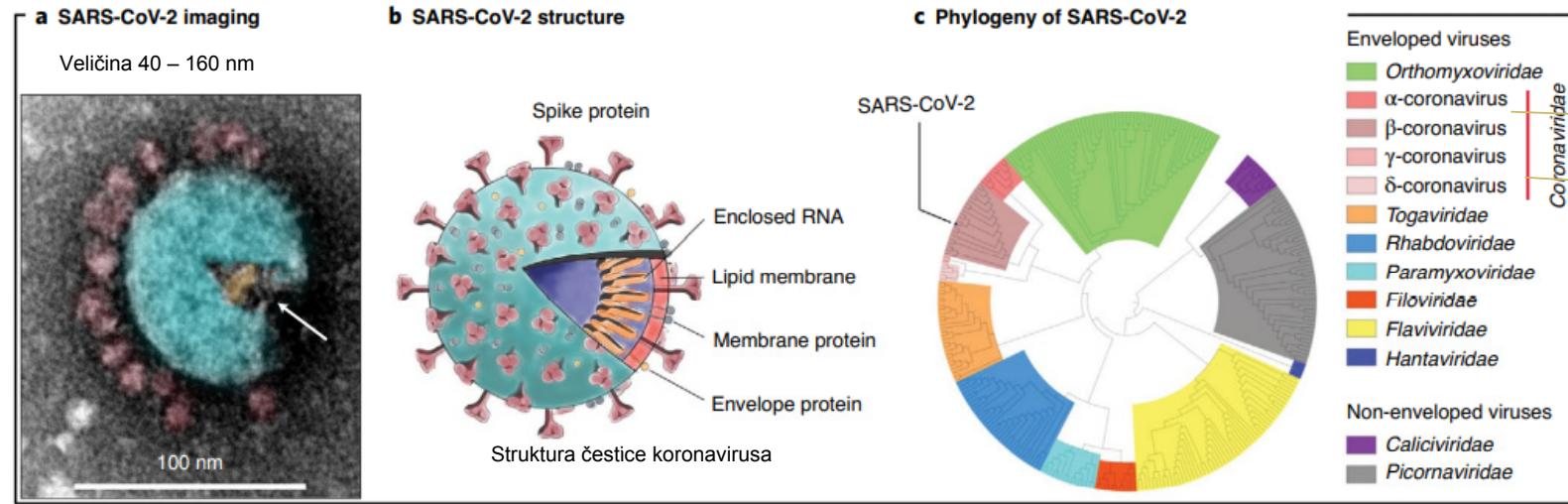


Bliskoistočni respiratori sindrom (MERS) zbog MERS-CoV infekcije prvi put je otkriven 2012. Od tada je potvrđeno 2574 zaraženih pojedinaca i 886 povezanih smrtnih slučajeva, a SZO i dalje ažurira zarazne slučajeve svake godine.





Pandemija COVID 19: SARS-CoV-2



Inficiraju ljude
Inficiraju ptice

Virusi sa omotačem su u odnose na virusе bez omotačа različiti u pogledу genoma, strukture, replikacije, patogenosti i postojanosti

Jedan od najvećih nesegmentiranih RNK virusa (od 27000 do 34000 b)

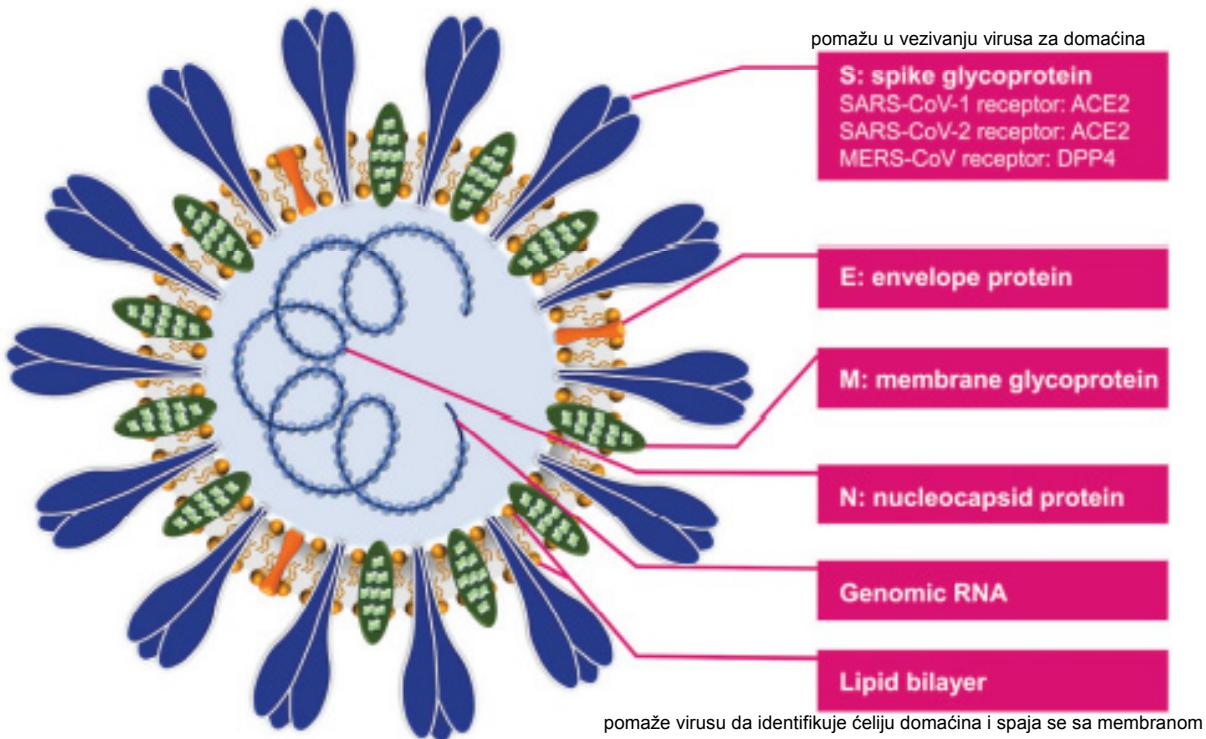
Interakcija sa ćelijom domaćina ostvarena putem ACE-2 (angitenzin konvertujući enzim 2 - receptor)

FAMILY	GENUS	SPECIES
Gastroenteritis virus	Caliciviridae	Norovirus
		Saprovirus
	Astroviridae	Astrovirus
	Reoviridae	Rotavirus
		Reovirus
	Coronaviridae	Coronavirus
		Torovirus
	Adenoviridae	Mastadenovirus
	Parvoviridae	Parvovirus





Pandemija COVID 19: SARS-CoV-2



Shematski prikaz strukture virusa: SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 i MERS-CoV

Linlin Yao et al, 2020

Strukturna razlika u S proteinu u odnosu na SARS CoV 1 može da objasni veću stopu međuljudskog prenošenja.

SARS-CoV-2 ima strukturne razlike u površinskim proteinima koje omogućavaju snažnije vezivanje za ACE-2 receptor i veću efikasnost prilikom ulaska u ćelije domaćina.

SARS-CoV-2 takođe ima veći afinitet za ACE2 receptore prisutne u gornjim disajnim putevima i konjunktivi.

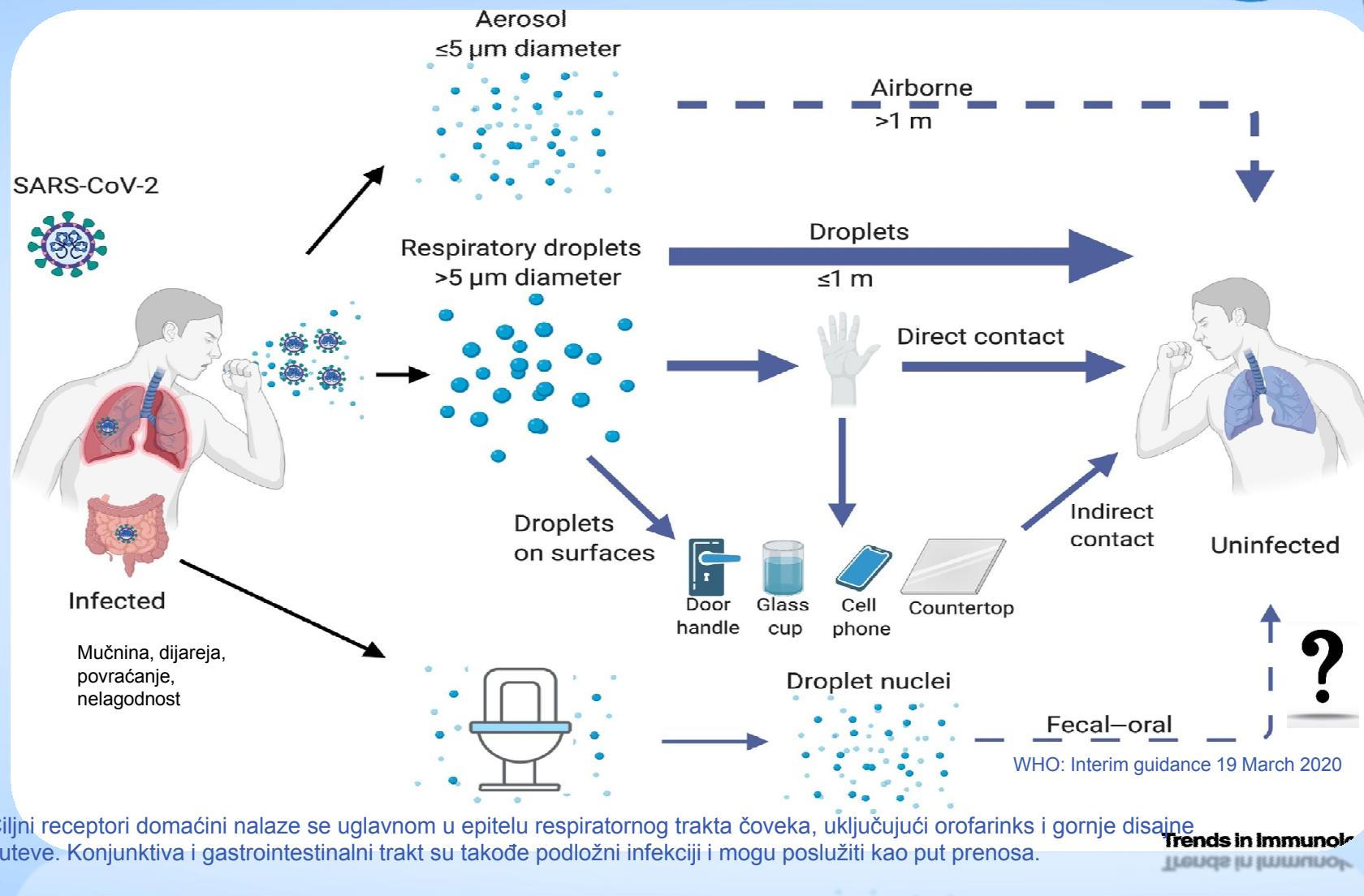
Infektivnost različitih vrsta sojeva SARS-CoV-2 u ćelijama domaćina proporcionalna je kinetici vezivanja svakog soja i ACE2 receptora – rizik mutacija: povećava se infektivnost virusa!



Primarni mehanizam prenosa SARS CoV 2



Water Workshop 2021



Interhumano

Kapljično i
direktnim/indirektnim
kontaktom

Simptomi: Kašalj, kijanje, umor,
glavobolja, temepratura, bol u
grlu, gubitak cula (miris, ukus),
otežano disanje, upala pluća.

„Fizička distanca“,
ne
„socijalna distanca“ !

Trends in Immunology
Journal in brief





Od početka epidemije do sada



Istraživanja!

Potencijalni putevi prenosa kroz životnu sredinu

i

svakodnevna izloženost



Optadna voda kao moguć put prenosa SARS CoV 2



Water Works logo 2021

RNA SARS-CoV-2 otkrivena je u fecesu, uzorcima disajnih puteva ili krvi kod 6 pacijenata, dok je 7 pacijenata izlučilo virus u uzorcima respiratornog trakta i fecesu ili krvi. Perzistentsnot SARS-CoV-2 je primećena u uzorcima stolice 2 pacijenta koji nisu patili od dijareje. (Wang W, et al , 2020).

Visoka učestalost virusa (83,3%) u fecesu pacijenata sa blagim simptomima je primećena zajedno sa produženim izlučivanjem RNK virusa u fecesu tokom jednog meseca (Cai J., et al, 2020).

U uzorcima 18 pacijenata sa blagom infekcijom respiratornog trakta, sa dijagnozom SARS-CoV-, utvrđeno je prisustvo virusa u stolici, ali ne i u urinu (Young B.E. Et al, 2020)

Genomska RNA SARS-CoV-2 otkrivena je sedmog dana bolesti u uzorku stolice (Holshue M.L., et al 2020).

Uzorci stolice 73 hospitalizovana pacijenata zaraženih SARS-CoV-2 su bili pozitivni na detekciju virusne RNK (53,42%), a pozitivnost se zadržala u fecesu (23,29%) čak i nakon što se virusna RNK smanjila ispod nivoa detekcije u respiratornom traktu (Xiao F., et al , 2020).

Pacijenti koji su se oporavili od SARS-CoV-2 (66 isppitanika) nakon tretmana otkriveni su pozitivni na virusnu RNK u uzorcima stolice (16,7%) i urina (6,9%) (Ling Y.,et al, 2020).

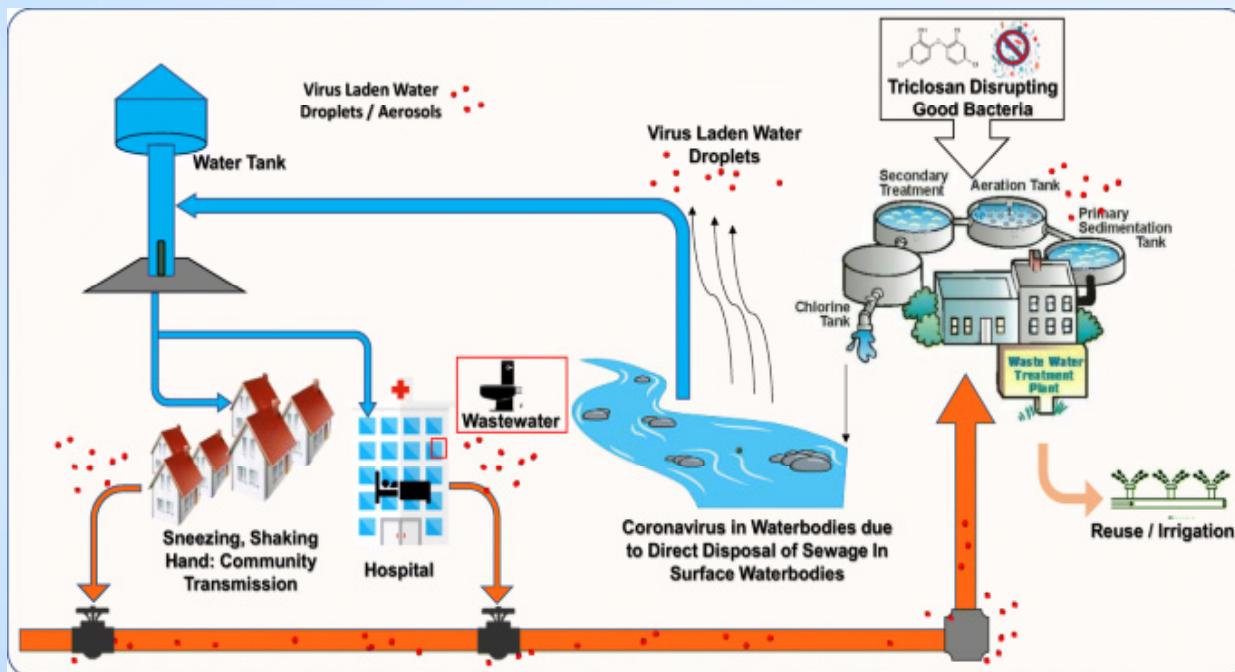
Virusna RNK je izolovana u fecesu 33 dana nakon što je pacijent negativan na virusnu RNK u uzroku iz respiratornog trakta (Chan J.F.W., et al, 2020).

Utvrđeno je da izlučivanje virusa putem digestivnog trakta može trajati duže od izbacivanja iz respiratornog trakta (Xu Y., et al, 2020)

Optadna voda kao moguć put prenosa SARS CoV 2

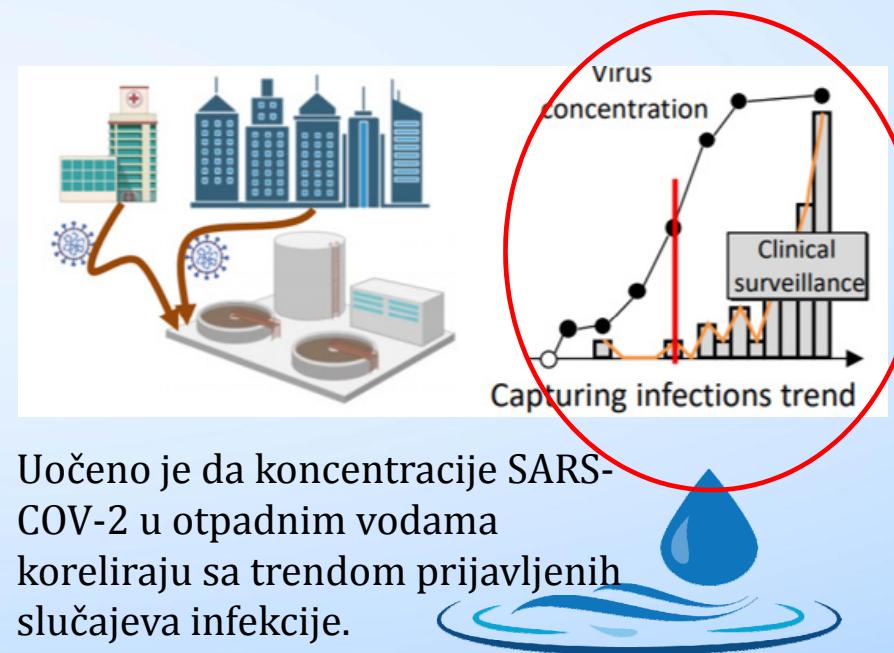


Istraživanja – Monitoring (nadzor) otpadnih voda kao osetljiv „alat“ za praćenje cirkulacije SARS-CoV-2 virusa u populaciji!



[Environmental Science and Pollution Research](#) volume 28, pages 22221-22240 (2021)

Otpadna voda = „urin“ jedne populacije



Uočeno je da koncentracije SARS-CoV-2 u otpadnim vodama koreliraju sa trendom prijavljenih slučajeva infekcije.

Koncept „Epidemiologija zasnovana na otpadnim vodama“ dobija na značaju

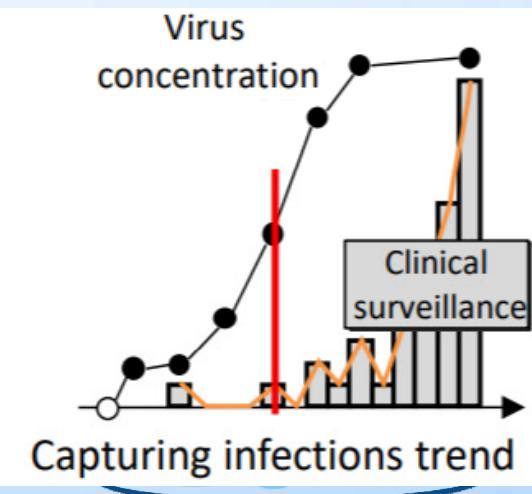
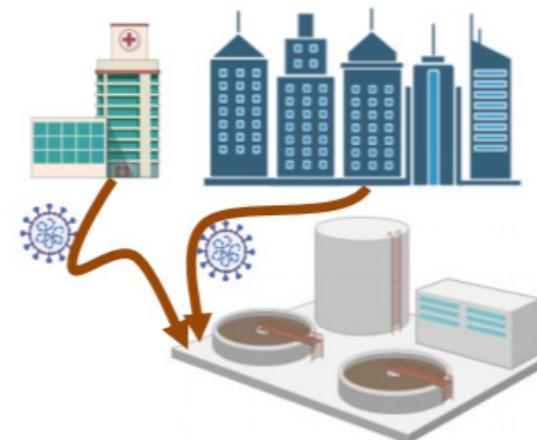
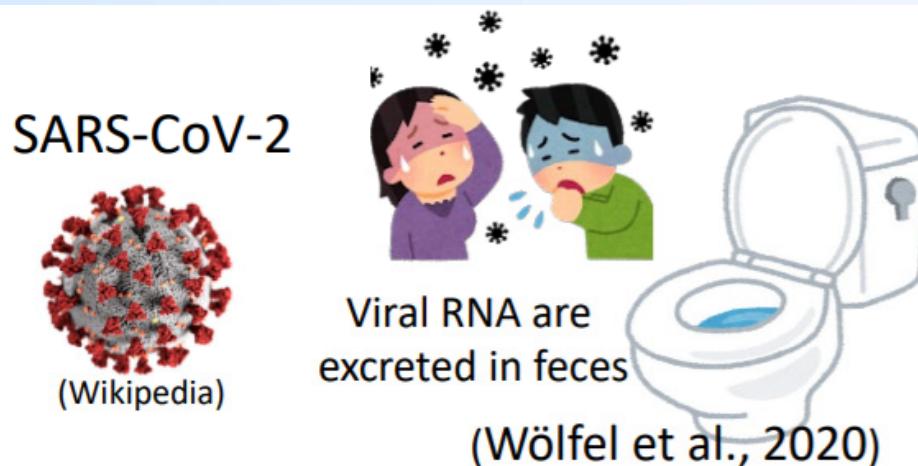


Water Workshop 2021

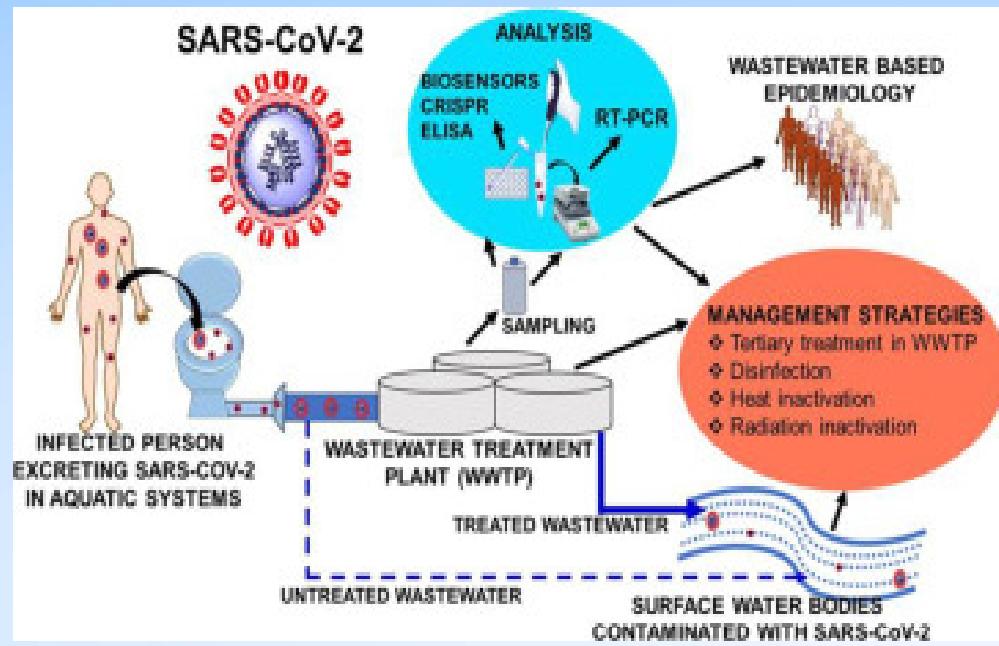
Epidemiologija zasnovana na otpadnim vodama (Epidemiology based wastewater - EBW) dobija na značaju nakon prvog izveštavanja o detekciji RNK SARS-CoV-2 u otpadnoj vodi u martu 2020. godine.

Cilj EBW je proceniti prevalenciju COVID-19 u određenoj populaciji, a na osnovu monitoringa otpadnih voda.

Efikasnost EBW je zasnovana na činjenici da se može koristiti kao rano upozorenje na izbijanje bolesti, kao i za procenu efikasnosti javno-zdravstvenih intervencija.



Koncept EBW dobija na značaju!

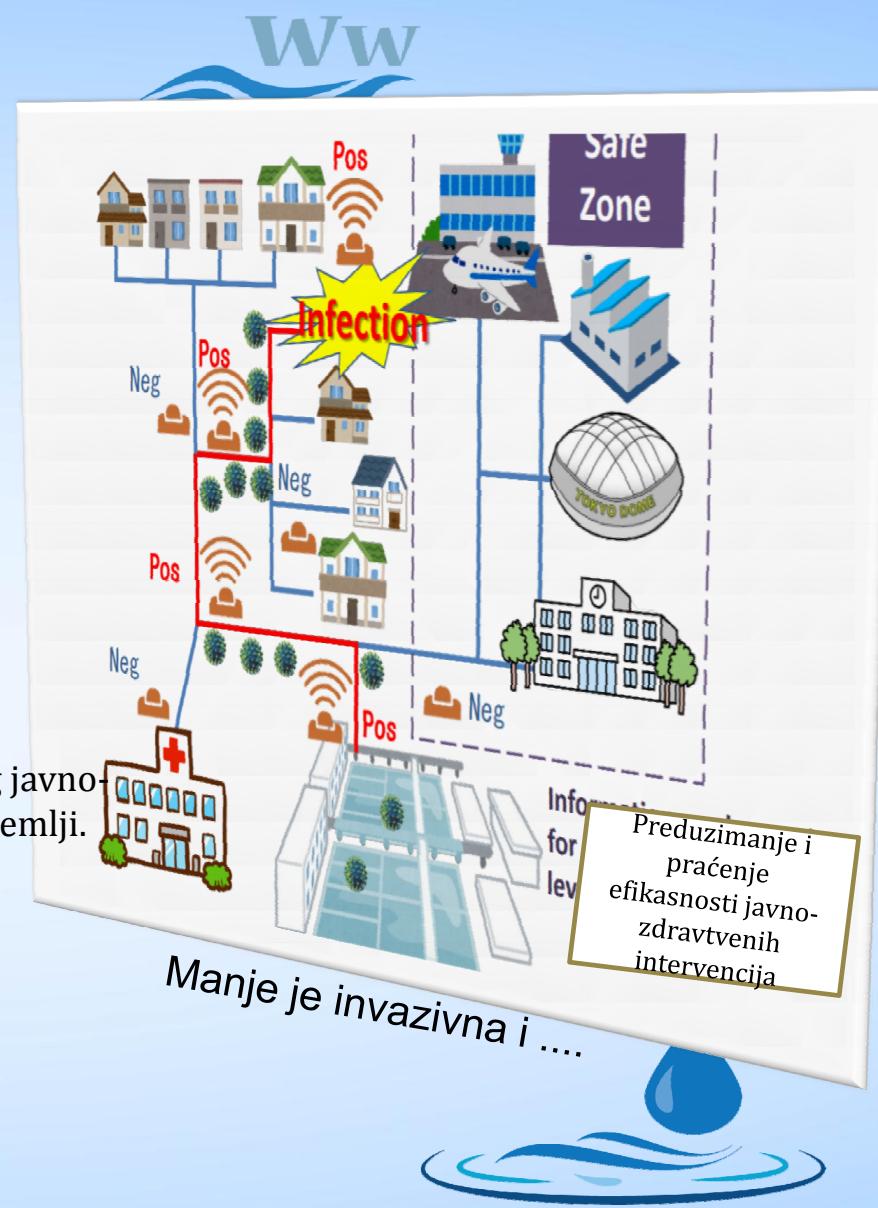


[Science of The Total Environment, Volume 765, 15 April 2021, 142698](#)

EBW nije nova „ideja“, ali pandemija COVID 19 bi mogla biti začetak razvoja novog javno-zdravstvenog sredstva na lokalnom nivou kao i da utiče na održivost istog u celoj zemlji.

SARS CoV2 RNK se izlučuje u stolici osoba sa simptomaskim, ali i asimptomskim infekcijama! Dakle, omogućava registrovanje asimptomatskih pacijenata, koji su predstavljeni značajnim izvorom infekcije!!!

Može biti važan dodatak postojećem javno-zdravstvenom nadzoru kao odgovor na COVID-19 jer ima mogućnost pružanja informacija o trendovima infekcije u novoprijavljenim slučajevima u zajednici.



Koncept EBW dobija na značaju!

Javno-zdravstveni značaj ranog otkrivanja asimptomastkih pacijenata

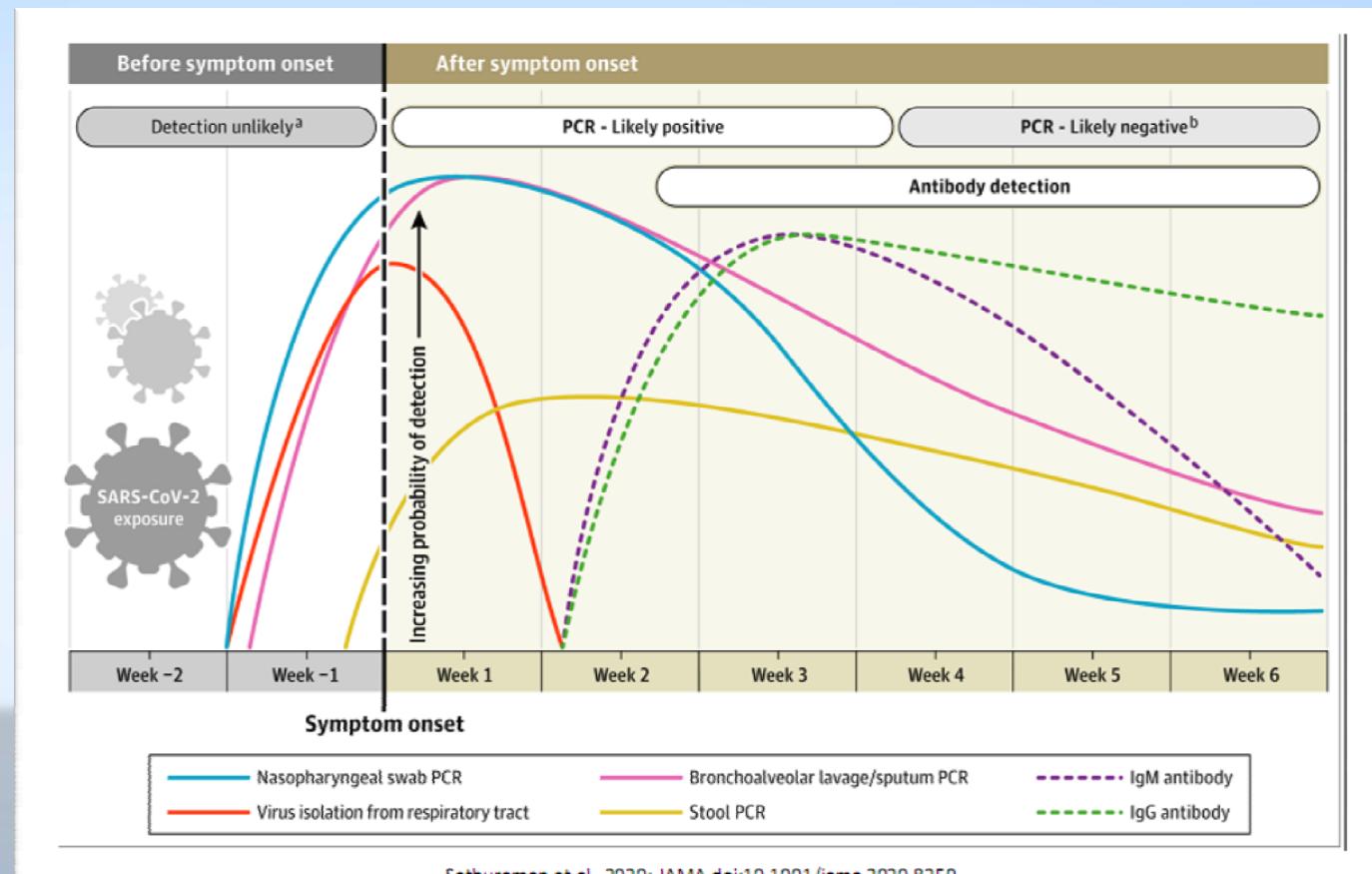


Asimptomatska infekcija je veoma značajna za tok i dinamiku epidemije!

Zastupljenost asimptomatskih pacijenata 40% -90%.

Postojanje asimptomatskih slučajeva je generalno dobro, sa aspekta pojedinca, povećava se i kolektivni imunitet!

Asimptomatski pacijenti pritajeni, nevidljivi izvori virusa, otežavaju kontrolu epdiemije!



Koncept EBW dobija na značaju!



 Faculty of Sciences
University of Novi Sad

About Us ▾ Study at UNSPMF ▾ Research ▾ International Relations ▾ News Contact Web Services ▾  

- **Project title:** Determining the presence of enteric viruses of animal and human origin and SARS-COV-2 viruses in surface and wastewater in Vojvodina – a pilot project
- **Project number:** 142-451-3200/2020
- **Institutions participating in the project:** Scientific Veterinary Institute (Novi Sad), Faculty of Medicine (Novi Sad) and Faculty of Sciences (Novi Sad)
- **Status in the project:** Partner
- **Project leader:** Gospava Lazić (Petar Knežević)
- **Project type:** APV short-term
- **Period of realization:** 2020-2021

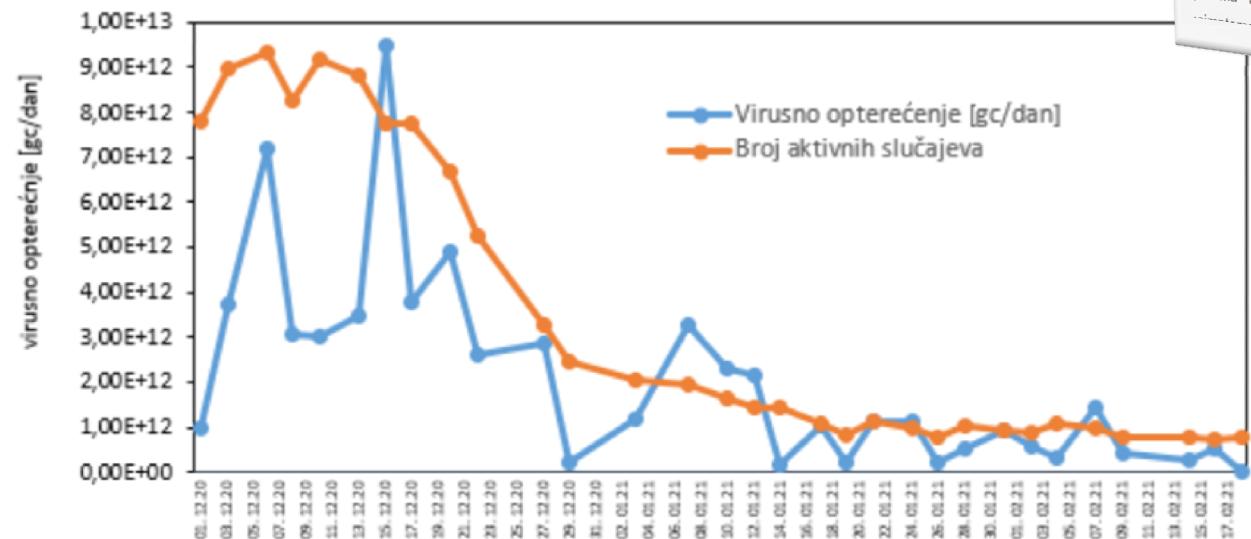






Rezultati ispitivanja otpadnih voda grada Zagreba na prisutnost RNA virusa SARS-CoV-2

Objavljeno: 22. ožujka 2021.



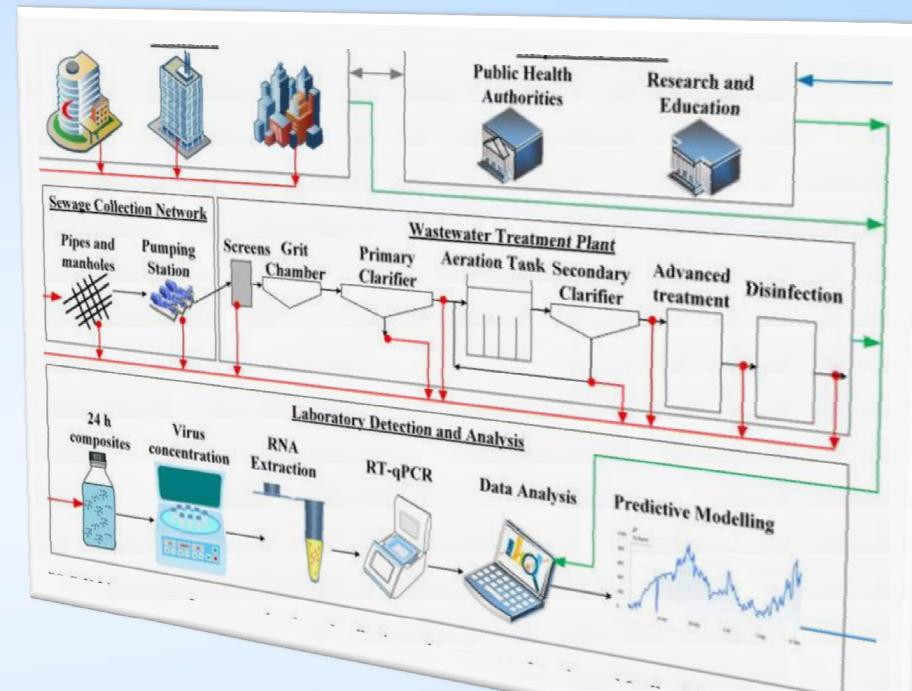
Koncept EBW dobija na značaju, međutim....



Detekcija SARS CoV 2 u velikoj meri zavisi od karakteristika otpadnih voda, koji mogu da u velikoj meri utiču na opstanak i postojanost SARS-CoV-2 u otpadnim vodama.

Uočena je izražena varijabilnost koncentracije SARS-CoV-2 RNK u uzorcima otpadnih voda, te postoji potreba za definisanje odgovarajuće metode za molekularnu detekciju RNK SARS-CoV-2.

Odstupanje u rezultatima su posledica metodološkog pristupa (uzorkovanje (vrsta i mesto uzorkovanja), skladištenje, priprema uzoraka) i različitih uslova/faktora koji utiču na mogućnost detekcije virusa u otpadnoj vodi.



Faktori koji utiču na stabilnost/period preživljavanja virusa u sistemima za prikupljanje i tretman otpadnih voda

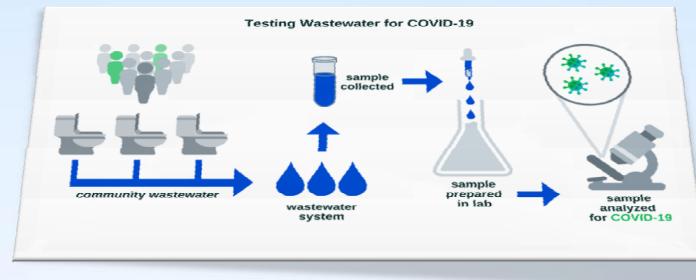


Workshop 2021

Faktori koji utiču na preživljavanje:

Korisni iz perspektive zaštite na radu i rizika po zdravlje ljudi

Faktori koji se odnose na sudbinu virusnih biomarkera korisni za identifikaciju „hot-spot“ područja unutar zajednice.



Dostupni rezultati su zasnovani na **surogatima** (opstanak: dana-nedelja), za sada samo kao *smernice!*

Kao najznačajniji izdvojili su se:

- uticaj temperature otpadne vode
- Uticaj pH vrednosti otpadne vode
- Uticaj koncentracije suspendovanih materija i prisustvo biofilma (organских materija, mikroorganizama)
- Uticaj postupka dezinfekcije (koncentracija dezinfekcionog sredstva)

Sudbina virusa:

Inaktivacija

(opstanak humanog korona virusa u vodi je 7 dana na 23°C)

Fragmentacija

Disperzija



Uticaj temperature: Najznačajniji faktor koji utiče na preživljavanje korona virusa!

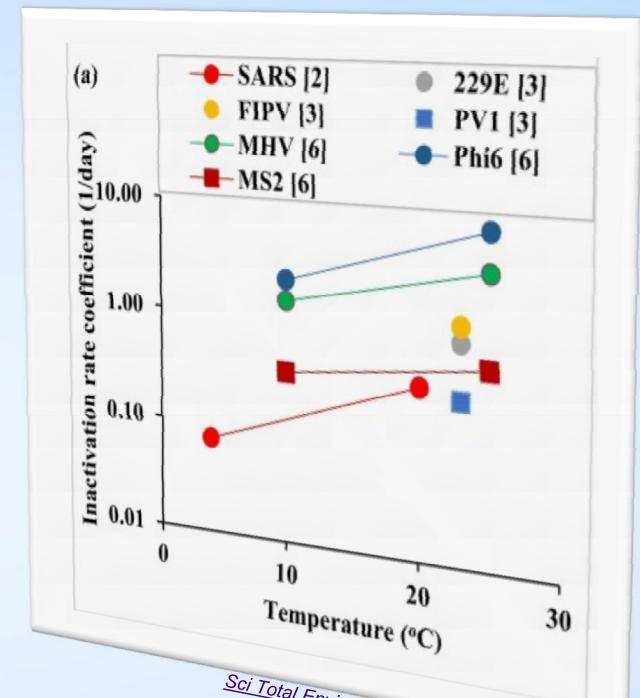
Prvi rezultati o postojanju korona virusa u otpadnim vodama: brza inaktivacija - vreme potrebno da se titar virusa smanji za 99,9% je u rasponu od 2 do 4 dana.

Sa porastom temperaturu, koeficijent stope inaktivacije virusa raste: kraći vreme trajanja virusa u otpadnim vodama (kanalizaciji).

Porast temperature - denaturacija proteina i povećana aktivnost ekstracelularnih enzima.

Sudbina virusa u odnosu na temperaturu zavisi i od tipa virusa; очekivano, virusi bez omotača (PV1 i MS2) preživeli su duže od onih sa omotačem (SARS-CoV, 229E).

Međutim, SARS-CoV sa omotačem ima mnogo niži koeficijent stope inaktivacije od ostalih virusa sa omotačem (MHV, Phi6), a blizu stope virusa bez omotača, što sugerise da je među ovim virusima SARS-CoV bio skoro najstabilniji u odnosu na temperature u otpadnim vodama.



Sci Total Environ., 2021 Mar 10; 759: 143493
Titar virusa SARS-CoV-2 se brže smanjuje na 23 °C, a smanjenje je bilo mnogo brže na 25 °C nego na 4 °C



Uticaj pH vrednosti otpadne vode

Na opstanak virusa u otpadnim vodama utiče i pH vrednost otpadne vode.

Većina studija o uticaju pH vrednosti na preživljavanje virusa izvedeno je in vitro.

Utvrđeno je da je:

- jedan od tipova humani koronavirus (229E) najstabilniji na pH 6 (stabilnost je zadržao i u rasponu pH 5-8 na 33°C);
- transmisivni virus gastroenteritisa (TGEV) najstabilniji na pH 6,5 i da je ostao stabilan i u opsegu pH 6,5–8;
- SARS-CoV-2 opstao u širokom opsegu pH vrednosti (3-10) tokom ispitivanja (period od 1 sata), ali još uvek je nejasno kako se njegova stabilnost menja dužeg vremenskog perioda.



Uticaj suspendovanih materija i biofilma

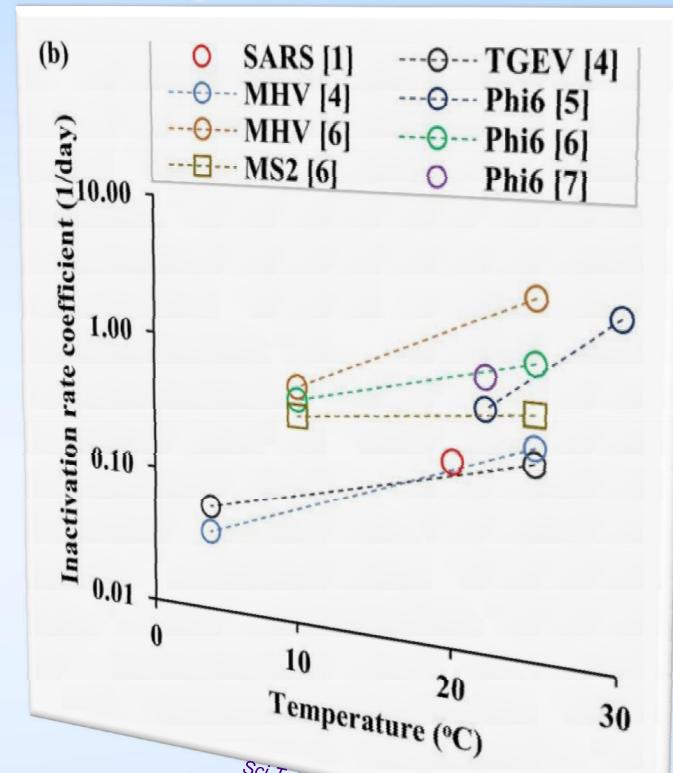
Povećavajući šanse da se virusi adsorbuju na ove čestice i tako postanu zaštićeniji;

Moguće je zadržavanje virusa i do 4 dana u otpadnim vodama zahvaljujući sorpciji virusa za suspendovane materije (biofilm) (studija jednokratnog ubacivanja virusa u kanalizacioni sistem)

Sorpcija virusa zavisi od količine i prirode suspendovanih čestica u vodenoj fazi.

Prisustvo drugih mikroorganizama ubrzava inaktivaciju virusa u otpadnim vodama (antagonistički efekat).

Uticaj suspendovanih materija na preživljavanje virusa zavisi i od pH vrednosti otpadne vode.



Sci Total Environ. 2021 Mar 10; 759: 143493.



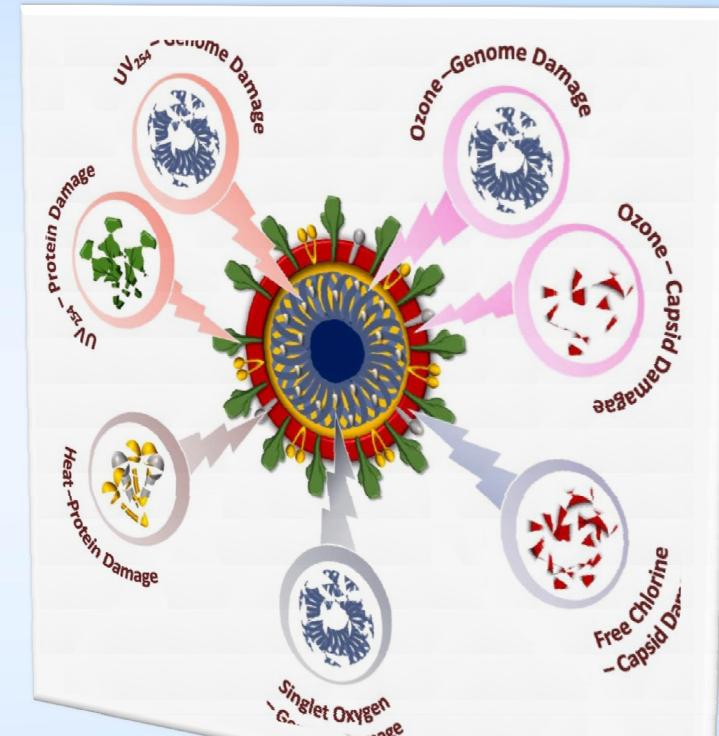
Uticaj dezinfekcije u sistemima za tretman otpadnih voda - smanjenje rizika po javno zdravlje

Water Workshop 2021

Prisustvo i koncentracija sredstava za dezinfekciju (slobodni rezidualni hlor) - faktor koji je od značaja za opstanak virusa u otpadnim vodama.

Prednost se daje aktivnom hloru u odnosu na hlor dioksid.

Potpuna inaktivacija SARS-CoV u otpadnoj vodi se postiže koncentracijom slobodnog rezidualnog hlora od 0,5 mg/L ili 2,19 mg/L hlor dioksida – rizik nepotpune inaktivacije Escherichia coli.



Faktori koji utiču na stabilnost/period preživljavanja virusa u sistemima za prikupljanje i tretman otpadnih voda

WW

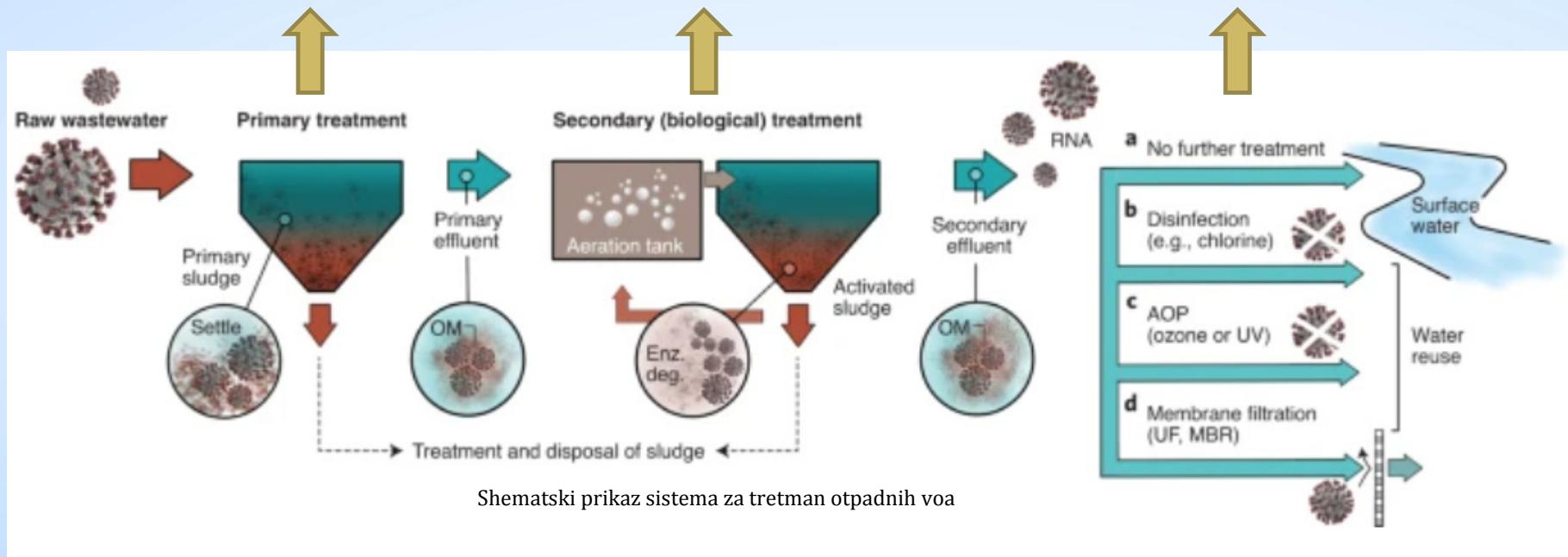


Water Workshop 2021

Virusno opterećenje bi moglo da potraje unutar taloga, za sobom povlači rizik od sekundarne kontaminacije.

Neke studije pokazuju da je virus još uvek prisutan u sekundarnim otpadnim vodama

Kada je u PPOV bio prisutan tercijarni tretman, nijedan genetski materijal nije otkriven u toku otpadne vode



Sci Total Environ. 2021 Mar 10;759:143493

Dakle, primarni mulji i aktivni mulj su identifikovani kao mesta sa najvećom koncentracijom virusa u pogledu uticaja PPOV, s obzirom da virusi sa omotačem imaju afinitet prema bio čvrstим materijama



Uloga sistema tretmana otpadnih voda u opstanku i preživljavanju virusa SARS-CoV-2



VOLUME 2021, 13, 104

Table 1. Prevalence of SARS-CoV-2 RNA in WWTPs.

Country	Period	Wastewater	Detection Method	Treatment Process	N ₁ /N ₂ (%)	C (Copies L ⁻¹)	Removal (%)
Spain	March–April 2020	WWTP influent	RT-qPCR	-	35/42 (83%)	2.5×10^5	-
		Secondary effluent	RT-qPCR	Activated sludge	2/18 (11%)	2.5×10^5	0%
		Tertiary effluent	RT-qPCR	Coagulation ↓ Flocculation ↓ Sand filtration ↓ Disinfection	0/12 (0%)	0	100%
USA	January–April 2020	WWTP influent	RT-qPCR	-	2/7 (28%)	4.9×10^3	-
		Secondary effluent	RT-qPCR	Activated sludge	0/4 (0%)	0	100%
		Tertiary effluent	RT-qPCR	Disinfection	0/4 (0%)	0	100%
Japan	March–May 2020	WWTP influent	RT-qPCR	-	0/5 (0%)	0	-
		Secondary effluent	RT-qPCR	Activated sludge	1/5 (20%)	2.4×10^3	N/A
		WWTP influent	RT-PCR	-	6/16 (37%)	-	-
India	May–June 2020	Secondary effluent	RT-PCR	Moving bed biofilm reactor (MBBR) or sequencing batch reactor (SBR)	0/1 (0%)	-	100%
				Tertiary effluent	0/6 (0%)	-	100%
Germany	April 2020	WWTP influent	RT-qPCR	-	9/9 (100%)	11×10^1	-
		Tertiary effluent	RT-qPCR	Ozonation	4/9 (44%)	19×10^1	N/A

N₁ = Number of positive samples; N₂ = Number of collected samples; C = SARS-CoV-2 concentration (average values)



SARS-CoV-2 u otpadnoj vodi i potencijal daljeg prenosa!

SARS-CoV-2 i sekvence virusa su identifikovani i izolovani u uzorcima fecesa ljudi.

Do danas je virus otkriven u otpadnim vodama u Australiji, Kini, Francuskoj, Japanu, Italiji, Španiji, Holandiji i Sjedinjenim Američkim Državama i Turskoj.

Potencijal daljeg prenošenja SARS-CoV-2 putem otpadne vode dokazan je slučajem iz Guangdžou u Kini (Centar za kontrolu i prevenciju bolesti u Guangzhou, 2020).

Zabrinutost: Globalnim širenjem virusa može se очekivati mnogo više slučajeva u zemljama sa niskim prihodima, sa slabijim zdravstvenim sistemima i sistemima upravljanja otpadom.

Surveillance of COVID-19 indicators in wastewater

IAIEX EU EXPERTISE SINCE 1996

Current research on environmental surveillance of COVID-19 in wastewater all over the world

Technical Assistance and Information Exchange instrument of the European Commission:
Current research on environmental surveillance of COVID-19 indicators in wastewater all over the world.

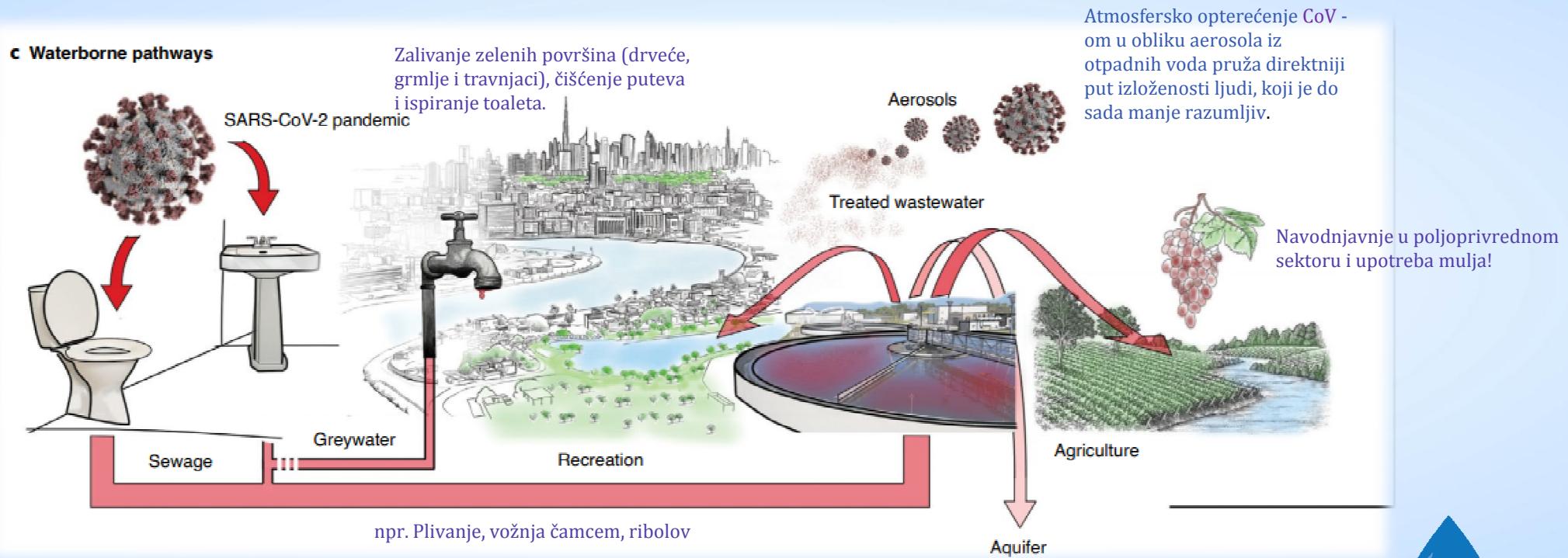
CSIC CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Otpadna voda kao sekundarni put penosa SARS-CoV-2: rizik po zdravlje?



Water Workshop 2021

Ispuštanje enetrovirusa u životnu sredinu putem prečišćenih ili neprečišćenih otpadnih voda uključuje neke oblike postojanosti virusa u životnoj sredini: stvaranje aerosola iz aktivnog mulja, kontaminaciju poljoprivrednih proizvoda, bioakumulaciju u vodnim resursima itd.



Mulj (PPOV i ZU): zahteva adekvatno upravljanje, potencijalni rizik: opasnost po zdravlje radnika tokom proizvodnje, transporta i odlaganja mulja; stanovnika koji žive u blizini postrojenja.

Anne Bogler et al., 2020



Otpadna voda kao sekundarni put prenosa SARS COV 2: rizik po zdravlje?

SARS-CoV-2 je identifikovan u uzorcima otpadnih voda iz različitih zemalja.

Znanje o prisutnosti i postojanosti SARS-CoV-2 u otpadnim, a potom i prirodnim vodama je **i dalje relativno oskudno** i pored velikog broja studija.

Razmatra se mogućnost sekundarnog prenosa SARS-CoV-2 putem sistema za otpadne vode. **Centar za kontrolu i prevenciju bolesti Guangzhou, Kina, je prijavio prvi potencijalni slučaj.**

Pristup Epidemiologija zasnovana na otpadnim vodama ima tendenciju da:

- postane **neophodna**, posebno ako se ima u vidu neizvesnot u pogledu sekundarnog prenosa virusa i drugih kliničkih kapaciteta (broj kliničkih testova, dug period do pojave simptoma).
- da bude **brži i jeftiniji javno-zdravstveni pristup pandemiji COVID-19**, jer prevaziđa potrebu da se veliki deo populacije testira pojedinačno (opterećuje zdravstveni sistem).

Svetska zdravstvena organizacija uvek ističe neophodnost nadzora na vodosnabdevanjem, sanitacijom i primenom dobre higijenske prakse kako bi se sprečila infekcija.



HVALA!

