

SARS-COV-2: КАНАЛИЗАЦИЯ КАК ПУТЬ ПЕРЕДАЧИ

Ерхов А.А.

Российский государственный геологоразведочный университет имени Серго Орджоникидзе, г. Москва

Аннотация. Представлены результаты исследования РНК SARS-CoV-2 городских сточных вод в канализации и на очистных сооружениях. Вирус SARS-CoV-2 вызывает тяжёлое главным образом респираторное заболевание; он вирулентен, и в виду высокой контагиозности ведёт к быстрому распространению инфекции с существенным превышением эпидемического порога. Установлено, что контроль пути распространения инфекции через городскую систему канализации, является путём раннего предупреждения увеличения циркуляции вируса в популяции, что позволит успешнее профилактировать эпидемию, оперативно принимать решения по значимым вопросам здравоохранения. При этом передача Covid-19 через сточные воды маловероятна ввиду отсутствия непосредственного контакта человека с водой – и в канализации, и на ОС, а применяемые на них технологии обеззараживания, как заключительный перед сбросом в водные объекты этап процесса обработки, делают их безопасными в окружающей среде и системе водооборота.

Предмет исследования. Механизмы передачи возбудителя вируса SARS-CoV-2 с целью выявления трансмиссионных факторов и перекрытия всех путей его распространения.

Материалы и методы. Мониторинг сточных вод путём отбора проб в канализационных колодцах и на очистных сооружениях с лабораторным тестированием на присутствие нуклеотидов вируса. Разработка математического аппарата и алгоритмизация для компьютерной реализации расчёта структуры канализационной сети, позволяющие обнаружить источник распространения.

Результаты. Установлено, что коронавирус устойчив в агрессивной среде сточных вод и инфекция может передаваться по системе хозяйственно-бытовой канализации, однако ухудшение санитарно-эпидемиологической ситуации и влияние на эпидемию из-за распространения возбудителя по трубопроводам системы водоотведения и через очистные сооружения маловероятно, риск заболевания Covid-19 отсутствует; секвенирование SARS-CoV-2 в сточных водах позволяет изучить геном вируса от множества образцов и определить направление мутаций.

Выводы. Мониторинг сточных вод с целью изучения эпидемиологической ситуации является надёжным подходом, позволяющим охватить большое количество населения при помощи нескольких проб, подход ценен для раннего предупреждения, является экономически обоснованной альтернативой крупномасштабного индивидуального тестирования.

Ключевые слова: вирус, Covid-19, штамм, геном, инфекция, респираторное заболевания, кишечник, фекалии, водоотведение, трубопровод, очистные сооружения, сточная вода, обеззараживание, тест.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус SARS-CoV-2 – проблема медицинская и биологическая, социальная и демографическая, экономическая и политическая, а также водоснабжения и водоотведения – не исключено распространение возбудителя через природную и сточную воду, и поскольку интерес к объекту исследования многопланов, его особенности стали предметом разных работ – данные о вирусе и пандемии уже сейчас всесторонни, и как показывают, риск заражения через питьевую воду отсутствует, поскольку обеззараживающий эффект известных методов достаточен – действенен и пролонгирован, а вот сточные воды содержат РНК SARS-CoV-2, а, значит, наблюдения за поведением вируса в условиях канализаций интересны, и могут дать важный результат в этом звене предупреждения развития пандемии. Коронавирусная респираторная инфекция – тяжёлая вирулентная болезнь, не особо опасная, но опрокинувшая мир: коронавирусная эпидемия,

приведшая к пандемии планетарного масштаба, порождена инфекционным агентом, передаваемым воздушно-капельным путём – это основной механизм, но патогенные вирусы, как не клеточные относительно устойчивые агенты, могут быть опасными в разных средах, в том числе воде, и так как такие вирусы (как SARS-CoV-2) губительны для клеток организма хозяина, важно понимать все пути распространения, а канализация является наиболее благоприятной средой переноса сточной жидкостью в свободном состоянии и на взвешенных частицах воды (отмечена возможность прикрепления к микроорганизмам); характерные представители мира микробиологии показаны в таблице 1 [1]. Типичным для *питьевой* воды, то есть обычно заражающим через воду, является вирус гепатита А, но это при нарушении гигиенических требований, и чаще всего связано с загрязнением фекальным стоком при инфильтрации в водопровод сточной воды из повреждённого трубопровода системы водоотведения.

Таблица 1. Основные вирусы и заболевания, передающиеся по канализации

Table 1. Major sewer-borne viruses and diseases

Вирусы	Коксаки А & В	Аденовирусы	Эховирусы	Ротавирусы	
Заболевания	Туберкулез	Полиомиелит	Гистоплазмоз	Дизентерия	ОРВ

Первое упоминание о Covid-19 пришло из КНР в конце 2019 г., и описано было как заболевание, подобное гриппу, – он медленно распространялся по странам и континентам, достиг в начале 2022 г. апогея, и до сих пор не побеждён; при этом страны мира охвачены им неравномерно. Источник происхождения неизвестен, – предполагается как естественное – подковоносные летучие мыши, так и лабораторное – Уханьский институт вирусологии; поскольку эти допущения тенденциозны, они не могут быть аргументом ни за, ни против, тем более что репликация рано или поздно всегда ведёт к мутациям. Из г. Ухань эпидемия перешла на другие провинции КНР, чему во многом способствовал китайский Новый год 2020 г., затем – в Европу, и пошла по другим странам, – в связи с глобальным характером, 11 марта ВОЗ объявила о начале

пандемии. Поскольку пандемия развивается волнами, соотносимыми с началом календарного и учебного года (рисунок 1), с профилактической целью в виду высокой контагиозности необходимо ограничивать непосредственные контакты людей, вне зависимости являются ли они установленными вирусоносителями, или нет: НСoV – коронавирусы человека – респираторные патогены, приводящие к пневмонии (МКБ 11. СA40), – вакцинация и формирование популяционного иммунитета требуют гораздо больше времени. Особую озабоченность вызывает сдвиг возраста инфицированных в сторону более молодого, тем более что однозначна связь патогенеза Covid-19 с коморбидностью и тяжестью сопутствующих заболеваний.



Рисунок 1. Статистика заболеваемости Covid-19 в мире важна для подведения итогов; значения – по наивысшему уровню (реальная заболеваемость значительно выше, поскольку лёгкие и бессимптомные случаи упускаются из виду).
Figure 1. Statistics on the incidence of Covid-19 in the world are important for summing up; values are at the highest level (the actual incidence is much higher, since mild and asymptomatic cases are overlooked).

Анализ публикаций

Вообще идентифицировано семь кладов коронавирусов человека (иные источники указывают пять): четыре штамма вызывают лёгкие респираторные симптомы, а три: SARS-CoV-1 – тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) 2002 г., MERS-CoV – ближневосточный респираторный синдром (ББРС) 2012 г. и SARS-CoV-2 приводят к тяжелой пневмонии. Этиология предполагает знания строения и механизм поражения [2], – коронавирусы – частицы круглой формы β -семейства с оболочкой – состоят из четырёх разных белков и нити РНК (рисунок 2): белок в виде шипа, выступающий за липидную

оболочку, придаёт вирусу вид (под электронным микроскопом) солнечной короны (рисунок 3), белки оболочки и мембраны находятся в липидной мембране, обеспечивая структурную целостность, внутри – четвёртый белок – нуклеокапсид, представляющий каркас для удержания около 30000 нуклеотидов вирусного генома – одноцепочечной РНК с положительной полярностью; размер вирусной частицы 50-200 нм. Гликопротеин шипа используется вирусом для входа в клетку путём химического прикрепления к ангиотензин-превращающему ферменту 2 мембраны клетки-хозяина, и после размещения в эндоплазматическом ретикулуме начинает реплицироваться (рисунок 4 – эндцитоз альвеолярного эпителия [сайт Роспотребнадзора]).

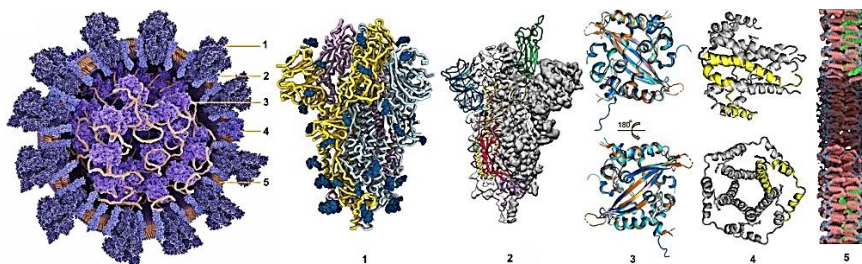


Рисунок 2. Компьютерные 3D-модели вириона и структурных белков коронавируса:

- 1 – спайковый (гликопротеин) – «шип» (S), размером (массой) 180-200 кДа и длиной 9-12 нм; 2 – мембранный (M) размером 25-35 кДа; 3 – РНК одноцепочечная RNA (жёлтый цвет) и нуклеокапсидный (N) размером 43-50 (фиолетовый); 4 – оболочки (E) размером 8,4-109; 5 – мембрана (липидная).

Figure 2. Computer 3D models of the virion and structural proteins of the coronavirus:

1 - spike (glycoprotein) - "spike" (S), size (mass) 180-200 kDa and length 9-12 nm; 2 - membrane (M) with a size of 25-35 kDa; 3 - RNA single-stranded RNA (yellow) and nucleocapsid (N) size 43-50 (violet); 4 - shells (E) with a size of 8.4-109; 5 - membrane (lipid).

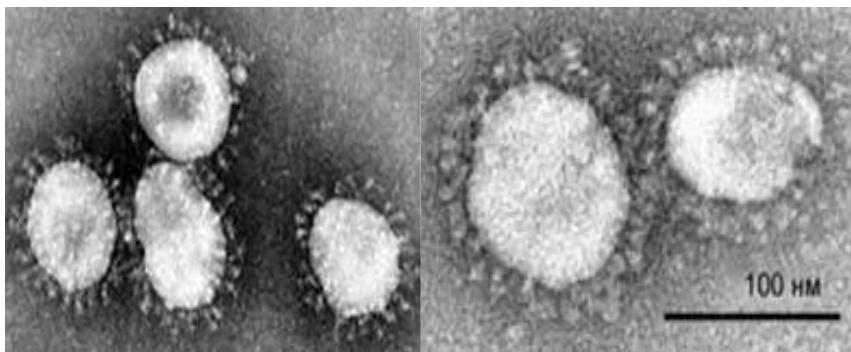


Рис. 3. Трансмиссионная электронная микрофотография коронавирусов.
Fig. 3. Transmission electron micrograph of coronaviruses.

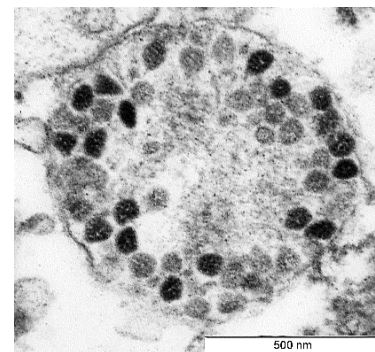


Рис. 4. Омикрон-штамм.
Fig. 4. Omicron strain.

Поскольку главная опасность воспалительной реакции от поражения вирусом – нарушение перфузии лёгких, политика тестирования и вакцинации, ношения масок и ограничения перемещений, особенно общественным транспортом, перехода на удалённый режим работы/учёбы и самоизоляции, запрета публичных мероприятий и изоляции/отслеживания заражённых положительно сказалась на эпидемии, основной путь распространения которой через воздух при дыхании, кашле и т.д.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Респираторная функция не единственный путь распространения, требующий близкого контакта – Covid-19 способен переноситься материальными объектами, то есть неодушевлёнными телами и жидкостями, летучими органическими соединениями, а такой путь проще перекрыть, если источник известен. Технологии водоподготовки для обезвреживания бактерий и вирусов предполагают обеззараживание, направленное на гибель патогенов и условно патогенных видов (симбионтные полезные формы в воде не присутствуют, и не учитываются), – в процессе используют вещества-сильные окислители: хлор и его соединения, озон, а также жёсткое электромагнитное излучение – УФ; хлор и УФ более действенны против бактерий, озон – против вирусов [3, 4], однако SARS-CoV-2 легко поражается и хлором.

Канализация предоставляет обширный микробиологический материал, при этом особый интерес вызывают сточные воды инфекционных отделений лечебных учреждений – геном Covid-19 выявляется в стоке различных клиник: лишь 10 % (некоторые источники утверждают – 3 %) пациентов с Covid страдают от диареи (к которой могут добавляться ЖК симптомы: диспепсия, тошнота, рвота, метеоризм и боли, вызванные

желудочно-кишечной Ковид-инфекцией), однако со стулом выделяют все; оболочечная мембрана SARS-CoV-2 необычна для не имеющих оболочки кишечных вирусов – аденовирусов, ротавирусов, норовирусов, гепатовирусов, и SARS-CoV-2 обладает большей сопротивляемостью и лучшей выживаемостью в ЖКТ. Но и до начала острой фазы, за неделю до проявления физиологических симптомов (также, как и после выздоровления), SARS-CoV-2 можно обнаружить в сточной воде, активном иле, очищенных сточных водах и водоёме, что говорит о возможности раннего предупреждения Covid [5-7], и определить тенденции распространения; исследования позволяют изучить генетическое разнообразие и варианты SARS-CoV-2: секвенирование SARS-CoV-2 для определения штаммов Альфа, Бета, Гамма, Дельта и Омикрон позволяет соотносить вариант вируса с тяжестью и иммунитетом, определяющим общую эпидемиологическую ситуацию.

Мониторинг сточных вод для скрининга на SARS-CoV-2 с целью раннего обнаружения в популяции болезни наиболее важен для территорий с высокой плотностью населения: эпидемиологически учитывают лишь случаи, попавшие в медицинскую статистику в виду выраженности симптомов (у большинства инфицированных клинические симптомы проявляются спустя 3-7 сут), что не отражает истинные уровни распространения инфекции – бессимптомность может достигать 80 %, и канализация объективизирует фактические значения, необходимые для оптимизации работы общественного здравоохранения и интенсификации научной деятельности для разработки методик предупреждения других видов инфекций в будущем (например, полиомиелита); так как вирус SARS-CoV-2 инфицированного начинает распространяться до проявления симптомов Covid-19, подход особенно ценен для раннего предупреждения, и кроме того, такой мониторинг

является экономически обоснованной альтернативой крупномасштабного индивидуального тестирования.

Методы отбора проб и скрининга в канализации нуждаются в надёжном вычислительном алгоритме, описывающем, в том числе, данную структуру канализационной сети, – водоотводящая сеть имеет плановые очертания разветвлённого графа-дерева, подобно речной системе из главной реки и притоков, и алгоритмизация математических методов должна приводить к результату, учитывающему в операционной обработке полный набор множества данных, и однозначно указывать на источник распространения.

Составная усреднённая проба сточной воды содержит смешанные фекальные «образцы» всего сообщества данной территории, следовательно и мазок будет общий данной местности, и исходя из скорости переноса вируса, затухания следа РНК, чувствительности анализа, погрешности метода численного моделирования, обнаружение одного



Рис. 5. Подготовка автоматических пробоотборников.
Fig. 5. Preparation of automatic samplers.

Второй путь передачи SARS-CoV-2 со сточными водами на канализационных очистных сооружениях (ОС), прежде всего с аэрозолями воздуха над аэротенками, и действительно, в пробах обычно обнаруживаются два вида: норовирус и аденовирус, – аденовирус присутствует почти во всех образцах (97 % зимой и 100 летом) в концентрации $2,27 \cdot 10^6$ геномных экв/м³, норовирус редко, но обнаруживается, отсюда, наличие патогенов в виде вирусных частиц в аэрозолях исключать нельзя. В эпидемию SARS-CoV 2002–2003 гг. не было ни одного случая заражения работников ОС.

Риск заражения через сточные воды необходимо соотносить с возможностью их попадания в природные объекты без очистки: при таянии снега и ливневых дождях не исключены переполнения канализации (половодья, паводки переносят патогены *Campylobacter*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, норовирус и энтеровирус), возможно подтопление территорий и подвалов зданий из-за утечек через повреждённый трубопровод канализационной

инфицированного возможно в популяции широчайшего диапазона – от ста человек до двух миллионов; данные о вирусной нагрузке SARS-CoV-2 в сточных водах и тенденциях заражения населения в отсутствие широкомасштабного индивидуального тестирования – информация для ответственных лиц системы здравоохранения.

Отбор проб в канализационных колодцах в асептических условиях с помощью автоматического пробоотборника обеспечивает точное пространственное разрешение и позволяет локализовать источник (рисунок 5), однако, это метод дискретной выборки, в отличие от которого непрерывная регистрация в режиме реального времени более чувствительна из-за большего объема проходящих через пробоотборник вод, но и менее достоверна для количественной оценки вирусных концентраций – неизвестно, какое количество вирусов покинуло пробоотборник без регистрации, то есть насколько эффективен сбор образцов.

системы, есть также риск, связанный с децентрализованными системами – в септиках жидкость не дезинфицируют, и возможно загрязнение водных объектов и питьевых колодцев через грунтовые воды, если расстояние до них <30 м.

Дезинфицирование сточной воды хлором, озоном и УФ для инактивации SARS-CoV-2 не являются единственными: возможно механическое удаление вируса процеживанием сквозь фильтрационные мембраны: нанофильтрация и обратный осмос – процессы отсеивания, в том числе микроорганизмов, по молекулярной массе, и биологическое удаление: находясь на своём трофическом уровне, хищные простейшие способны инактивировать вирусы каталитическим действием протеаз и нуклеаз с последующей адсорбцией твёрдыми частицами или связыванием хлопьями активного ила; активность в отношении SARS-CoV-2 проявляют и бактерии, например, штамм *L. fermentum* 90 TC-4.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ АНАЛИЗ

Пик выделений РНК в мазках из зева или носа приходится на день появления симптомов, среднее же время госпитализации после первых симптомов – 3–10,5 сут в зависимости от возраста и состояния, – и время между появлением в сточных водах РНК SARS-CoV-2 и госпитализацией с Covid-19 составляет 1–9 сут, то есть совпадают, поэтому наличие в сточных водах вируса предвещает госпитализацию. Задержка, как инкубационный период, приводит к увеличению числа заражённых, а ослабление карантинных мер, как причинно-следственная связь, усугубляет санитарно-эпидемиологическую ситуацию. Удалённый режим и самоизоляция значительно снижают концентрацию SARS-CoV-2 в сточных водах общественных зданий и бытовой канализации промпредприятий, что, впрочем, не приводит к существенному сокращению госпитализаций – несоответствие «сигнала» сточных вод и числа госпитализаций связано с нарастающим количеством заражённых молодых, состояние которых не требует больничного режима, поэтому при высоком растущем уровне циркуляции SARS-CoV-2 канализация не будет достоверным источником информации о пандемии. Также и снижение госпитализаций объясняется возрастной демографической структурой населения, на которое накладывается ограничение перемещений более возрастной группы, находящейся из-за коморбидности и хрупкости в зоне риска. Ещё одним фактором увеличения числа заболевших, который необходимо учитывать в моделях, является холодная погода – респираторные заболевания носят сезонный характер и ассоциируются с зимой.

Механизм выбора точек отбора образцов в канализации на SARS-CoV-2 имеет большую

неопределенность, чем госпитализация и другие перечисленные факторы, из-за нерегулярности измерений. Кроме того, неопределенность оценки абсолютного числа инфекций в сообществе посредством скрининга на вирус сточных вод происходит из-за отсутствия информации о продолжительности стула с SARS-CoV-2 (от 15 до 130 сут) при различной вирусной нагрузке конкретных штаммов (изменяется в пределах $I_g(3,5...7)$) генетических копий на грамм фекалий [гк/г] (рисунок 6), скорости выделения фекалий оцениваемой по формуле $C\Phi = VC \cdot Q \cdot 0,0007 / (G \cdot I)$, где VC – концентрация гена N в единицах копий гена на литр; Q – расход сточных вод; $0,0007$ – коэффициент перевода мин. в сут; G – средний вес влажных фекалий на душу жителя страны с высоким уровнем дохода (126 г/чел./сут); I – общее число потенциально инфицированных) и стабильности вируса в разных условиях, при том что вирусные частицы в зависимости от характера сети задерживаются в канализации от нескольких часов до двух дней, и кроме того, титр SARS-CoV-2 различается порядками. Количество SARS-CoV-2 в городском стоке оценивается в 56,6 млн–11,3 млрд вирусных геномов на одного инфицированного в день, или 600 тыс–30 млн вирусных геномов/мл фекального вещества, учитывая фекальную нагрузку в 100 г фекалий/человеко-день удельной плотностью 1,06 г/мл; в сточной воде SARS-CoV-2 способен выживать до 14 дней при 4 °C и только 2 при 20. Увеличение концентрации в сточных водах SARS-CoV-2 коррелирует с увеличением числа зарегистрированных случаев Covid-19, снижение – косвенно свидетельствует о снижении; впрочем, ряд исследований показывают отсутствие такой связи.

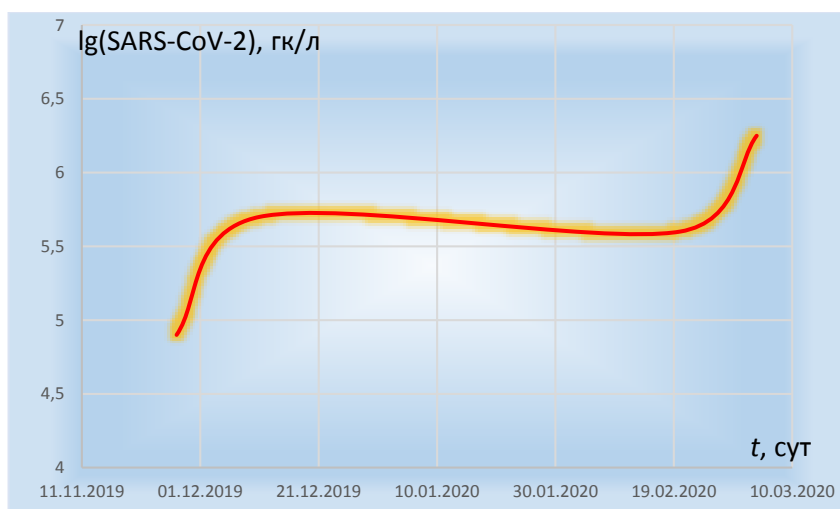


Рис. 6. Изменение вирусной нагрузки в канализации за три месяца (на примере Флорианополиса), – кривые аналогичны по всем мегаполисам мира – Европы, Северной Америки, других континентах.

Fig. 6. Changes in the viral load in the sewer for three months (on the example of Florianopolis), - the curves are similar for all megacities of the world - Europe, North America, and other continents.

Отобранные в канализации или на ОС образцы транспортируют в лабораторию в контейнерах с низкотемпературной средой ~4 °С. Методы концентрации [8] разнообразны (таблица 2) – например, вирус извлекают из образцов на основе ПЭГ (эффективность 15-25 % с общим средним 21), жидкость центрифугируют, к надосадочной жидкости добавляют MgCl₂, и образец пропускают сквозь электроотрицательную мембрану,

помещаемую в раствор лизирующего буфера, – вирус, попавший на мембрану, извлекают и инактивируют. Наименьшее количество обнаруживаемых копий 10 на реакцию. Сумму нуклеиновых кислот экстрагируют с использованием аппарата-экстрактора нуклеиновых кислот в соответствии с инструкциями производителя; экстрагированный NA хранят до секвенирования при –70 °С.

Таблица 2. Методы концентрации SARS-CoV-2 в образцах сточных вод
Table 2. Methods for concentrating SARS-CoV-2 in wastewater samples

<i>Метод</i>	<i>Алгоритм процесса</i>
Метод двухфазного разделения	Флокуляция с использованием мясного бульона в глициновом буфере
	Подкисленный и говяжий экстракт флокулируют добавлением HCl
	Суспензию перемешивают 10 ч
	Центрифугируют при 1000 g 30 мин при 4 °С
Метод двухфазного разделения (на основе ПЭГ)	Получают осадок, растворенный в фосфатно-солевом буфере
	Центрифугирование при 4500 g 30 мин
	Фильтрация супернатанта фильтром 0,22 мкм
	Добавление ПЭГ и NaCl
	Инкубирование в течение ночи при 17 °С и 100 об/мин
Метод двухфазного разделения (на основе ПЭГ)	Центрифугирование при 1300 g 90 мин
	Осадок ресуспендируют в воде без РНКазы
	Фильтрация через мембрану 0,20 мкм
Метод двухфазного разделения (на основе ПЭГ)	Добавление ПЭГ-8000 и NaCl
	Центрифугирование при 12 000 g 2 ч или до осадка
Метод двухфазного разделения (на основе ПЭГ)	Центрифугирование для удаления крупных частиц
	Добавление ПЭГ или квасцов и центрифугирование
	Инкубирование при 4°С при 100 об/мин 12 ч
	Центрифугирование при 14000 g 45 мин при 4 °С
	Вирус суспендируется в фосфатно-солевом буфере
	Фильтрация через фильтр 0,22 мкм
Ультрафильтрация	Центрифугирование с использованием ультрафильтрационной мембраны 30 кДа
	Центрифугирование при 4654 g 30 мин для удаления крупных частиц
Ультрафильтрация	Супернатант фильтруют через Centricon® Plus-70 100 кДа путём центрифугирования при 1500 g 15 мин
	Центрифугирование при 3000 g 30 мин для удаления крупных частиц
Ультрафильтрация	Супернатант фильтруют через Centricon® Plus-70 100 кДа центрифугированием при 1500 g 15 мин
	Блок фильтров переворачивают и центрифугируют при 1000 g 2 мин
	Фильтруется через мембранные фильтры 20 мкм, 5 мкм и 0,45 мкм
Ультрафильтрация	Концентрация концентратом Corning Spin-X 100 кДа
	Экстрагируют с помощью RNeasy Mini Kit и буфера, не содержащего РНКазы
Ультрафильтрация	Центрифугируют при 200 000 g 1 ч при 4 °С
	Вирусные осадки, ресуспендированные в фосфатно-солевом буфере
	Вирусный концентрат лизируют и экстрагируют
	Извлеченные нуклеиновые кислоты отфильтровывают при помощи набора для удаления ингибитора ПЦР
Адсорбционное элюирование вируса	Добавление MgCl ₂
	Пропускают через электроотрицательный фильтр 0,45 мкм
	Удаляют ионы Mg через H ₂ SO ₄
	Образец элюируют NaOH и извлекают пробиркой, содержащей H ₂ SO ₄ и Трис-ЭДТА
	Центрифугируют с ультрафильтрационной мембраной 30 кДа
Адсорбционное элюирование вируса	pH доводят до 6,0, и при добавлении AlCl ₃ образуют осадок Al(OH) ₃
	pH доводят до 6,0 и смешивают
	Центрифугируют при 1700 g 20 мин
	Ресуспендируют гранулы в экстракте мясного бульона при pH 7,4
Адсорбционное элюирование вируса	Центрифугирование при 1900 g 30 мин

Тестирование проводят методом полимеразной цепной реакции (PCR) с обратной транскриптазой в реальном времени (rRT-PCR), количественной ПЦР (qPCR) и количественной обратной транскрипцией (RT-qPCR), и методы такой оценки позволяют охватить не только протестированных с симптомами, но и нетестированных бессимптомных. Суть анализа – обнаружение нуклеиновых кислот SARS-CoV-2, поэтому

генетическим материалом вируса является РНК, называемая «отпечатком пальца» или идентификационной картой вируса; РНК-геном имеет репликационный комплекс: ORF1a¹ кодирует геном неструктурного белка² nsp1–nsp10, ORF1b – nsp11–nsp16, и четыре гена – шипа (S), оболочки (E), мембраны (M) и нуклеокапсида (N) кодируют структурные белки (рисунок 2), таблица 3 [9]).

Таблица 3. Олигонуклеотиды, рекомендованные ВОЗ для диагностики COVID-19
Table 3. Oligonucleotides recommended by WHO for the diagnosis of COVID-19

Локус	Олигонуклеотиды
ORF1b-nsp14	HKU-ORF1b-nsp14F TGGGGYTTTACRGGTAACCT
	HKU- ORF1b-nsp14R AACRCGCTTAACAAAGCACTC
	HKU-ORF1b-nsp141P FAM-TAGTTGTGATGCWATCATGACTAG-BHQ1
N gene	HKU-NF TAATCAGACAAGGAAGCTGATTA
	HKU-NR CGAAGGTGTGACTTCCATG
	HKU-NP FAM-GCAAATTGTGCAATTTGCGG-BHQ1

Для выявления используют наборы разных производителей.

Отличие нуклеотидов от эталона >1 % говорит о мутации, – частота (в процентах от общего числа) мутировавших нуклеотидов связана с известными летучими органическими соединениями и веществами (ЛОВ); отслеживание ЛОВ в клинических образцах позволяет при секвенировании образцов идентифицировать 60 % случайных геномов с 80 % распространённых инфекций. Поскольку исследования распространения SARS-CoV-2 и идентификация штаммов основаны на смешанных образцах, и обнаруживают общие мутации генома, а не штаммы отдельного человека, метод обладает преимуществами в сравнении с клиническим отбором проб, имея существенно больший охват населения с большой территории, – секвенирование SARS-CoV-2 в сточных водах позволяет изучить геном вируса от множества образцов и определить направление его мутаций. Мониторинг сточных вод является надёжным подходом, позволяющим охватить большие площади при помощи нескольких проб. Выявленные проблемы сложны, но решаемы, если есть надёжная модель, поэтому требуется дополнительная работа для оценки взаимосвязи систем отбора проб сточных вод с клиническими системами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов опубликованных исследований распространения SARS-CoV-2 через канализацию позволяет сделать следующие выводы:

1. Исследования РНК SARS-CoV-2 городских сточных вод в канализации и на ОС контролирует этот путь распространения инфекции, – путём раннего предупреждения увеличения циркуляции вируса в популяции можно воздействовать на эпидемию, однако, интерпретация появления вируса в сточных водах неоднозначна, поскольку только у 10 % пациентов с Covid-19 вирус выделяется в кишечнике, и некоторые больные не выделяют его со стулом. Тем не менее, тестирование нужно превратить в инструмент прогнозирования пандемии, – это многообещающий подход в оценке распространения COVID-19 в популяции, поскольку служит показателем соответствия содержания РНК SARS-CoV-2 в сточных водах и числа заражённых людей.

2. Передача Covid-19 через сточные воды маловероятна ввиду отсутствия непосредственного контакта человека с водой – и в канализации, и на ОС, а применяемые на них технологии обеззараживания, как заключительный перед сбросом в водные объекты этап процесса обработки, делают их безопасными в окружающей среде и системе водооборота.

3. Преимущества секвенирования сточных вод на вирус и использование метода для мониторинга канализации за передачей и разнообразием штаммов SARS-CoV-2 позволит успешнее профилировать эпидемию, оперативно принимать решения по значимым вопросам здравоохранения.

¹ Open Reading Frame – открытая рамка считывания – последовательность нуклеотидов, кодирующих белок.

² nsp – nonstructural protein.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ерхов А.А., Королёва Е.А. Микробиологический анализ воздуха в процессе эксплуатации инженерных систем и санация трубопроводов. Яковлевские чтения: сб. докладов XVI Международной научно-техн. конф. – М.: Изд. МИСИ, 2021. – С. 92-113.

2. Kyncl M. and Drabinová S. The impact of Covid-19 pandemic on water supplies and wastewater sewer system. *Advances in Environmental Engineering. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 900 (2021) 01.2021. – p. 1-5.

3. Ерхов А.А., Кравченко Д.С. Обзор патогенов питьевой воды для обоснования санитарно-гигиенических мероприятий. Сборник «Новые идеи в науках о Земле»: в 7 т./Материалы XIV Межд. научно-практ. конф. – М.: РГГПУ, 2019. Т. 3: Развитие новых идей и тенденций в науках о Земле: гидрогеол. и инженерная геология, геоэкология. – 466-470 с.

4. Ерхов А.А., Королёва Е.А. Определение производительности фильтров для обеззараживания вентилируемого воздуха резервуаров систем ВиВ.

Экология промышленного природопользования № 2, 2022. – С. 43-48.

5. Corchis-Scott Ryland and etc. Averting an Outbreak of SARS-CoV-2 in a University Residence Hall through Wastewater Surveillance. *ASM Journals Microbiology Spectrum*. Vol. 9, No. 2, 2021. – p. 1-12.

6. Ferraro G. Bonanno and etc. A State- of- the- Art Scoping Review on SARS- CoV- 2 in Sewage Focusing on the Potential of Wastewater Surveillance for the Monitoring of the COVID- 19 Pandemic. *Food and Environmental Virology* (2022) 14:315–354. – p. 315-354.

7. Itay Bar-Or and etc. Detection of SARS-CoV-2 variants by genomic analysis of wastewater samples in Israel. *Science of The Total Environment*, V. 789, 2021. p. 315-354.

8. Danwei Zhang and etc. SARS-CoV-2 in wastewater: From detection to evaluation. *Materials Today Advances* V. 13 (2022) 100211. p. 1-14.

9. Кузнецова Н.А., Почтовый А.А., Никифорова М. А., Гушин В. А. Стратегии дизайна РТ-ПЦР-систем и организация мониторинга SARS-CoV-2. *Вестник РГМУ* 2, 2020. – С. 21-25.

SARS-CoV-2: SEWERAGE AS A TRANSMISSION ROUTE

Erkhov A.A.

Sergo Ordzhonikidze Russian State University for Geological Prospecting

Abstract: The results of a study of the SARS-CoV-2 RNA of urban wastewater in sewers and sewage treatment plants are presented. The SARS-CoV-2 virus causes a severe mainly respiratory disease; it is virulent, and due to its high contagiousness leads to a rapid spread of infection with a significant excess of the epidemic threshold. It has been established that the control of the path of infection through the urban sewerage system is a way of early warning of an increase in the circulation of the virus in the population, which will make it possible to prevent the epidemic more successfully, to promptly make decisions on significant health issues. At the same time, the transmission of Covid-19 through wastewater is unlikely due to the absence of direct human contact with water – both in the sewer and on the OS, and the disinfection technologies used on them, as the final stage of the treatment process before discharge into water bodies, make them safe in the environment and the water circulation system.

Subject of research. Mechanisms of transmission of the causative agent of the SARS-CoV-2 virus in order to identify transmission factors and overlap all ways of its spread.

Materials and methods. Wastewater monitoring by sampling in sewer wells and sewage treatment plants with laboratory testing for the presence of virus nucleotides. Development of mathematical apparatus and algorithmization for the computer implementation of the calculation of the structure of the sewer network, allowing to detect the source of distribution.

Results. It has been established that the coronavirus is resistant in an aggressive wastewater environment and the infection can be transmitted through the household sewerage system, however, the deterioration of the sanitary and epidemiological situation and the impact on the epidemic due to the spread of the pathogen through the pipelines of the wastewater disposal system and through treatment facilities is unlikely, there is no risk of Covid-19 disease; sequencing of SARS-CoV-2 in wastewater allows you to study the genome of the virus from a variety of samples and determine the direction of mutations.

Conclusions. Wastewater monitoring in order to study the epidemiological situation is a reliable approach that allows covering a large number of the population with the help of several samples, the approach is valuable for early warning, is an economically feasible alternative to large-scale individual testing.

Key words: virus, Covid-19, strain, genome, infection, respiratory diseases, intestines, faeces, drainage, pipeline, treatment facilities, waste water, disinfection, test.