

„Analiza COVID-19 w ściekach komunalnych w województwie pomorskim” COVIŚ

Projekt realizowany w ramach umowy nr WFOŚ/D/355/4769/2020

Autorzy raportu:

dr hab. inż. Aneta Łuczkiewicz

Politechnika Gdańska

Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska

dr hab. inż. Sylwia Fudala – Książek

Politechnika Gdańska

Wydział Inżynierii Lądowej i Środowiska

dr inż. Beata Szatkowska

Gdańska Fundacja Wody

mgr Alicja Loch-Dzido

Gdańska Fundacja Wody

Jednostki uczestniczące w projekcie:

- Gdańska Fundacja Wody, ul. Trakt Św. Wojciecha 293C, 80-001 Gdańsk
- Grupowa Oczyszczalnia Ścieków „DĘBOGÓRZE”, należąca do PEWIK Gdynia Sp. z o.o.
- KWR Water Research Institute: Groningenhaven 7; 3433 PE Nieuwegein
- A&A Biotechnology: Al. Zwycięstwa 96/98; 81-451 Gdynia, Polska
- Eksperti zewnętrzni

Dofinansowanie realizacji:

- Wojewódzki Fundusz Ochrony środowiska i Gospodarki Wodnej w Gdańsku
Rybaki Górne 8, 80-861 Gdańsk

Spis treści

1. Geneza Projektu	3
2. Zakres	5
3. Metodyka badań	5
3.1 Analizy fizyko-chemiczne jakości ścieków surowych i oczyszczonych wykonywano w próbach średniodobowych	5
3.2 Wykrywanie materiału genetycznego wirusa <i>SARS-CoV-2</i> w ściekach	6
4. Wyniki badań	7
5. Efekt ekologiczny	11
6. Dodatkowe informacje	14
Literatura	15

1. Geneza Projektu

Choroba COVID-19 (ang. *corona-virus-disease-2019*) wywołana przez koronawirusa SARS-CoV-2 i prowadząca do ostrej niewydolności oddechowej, spowodowała paraliż całego świata. Po pierwszych przypadkach zgłoszonych w listopadzie 2019 roku w Wuhan w prowincji Hubei w Chinach nowy koronawirus SARS-CoV-2 szybko rozprzestrzenił się na inne regiony w Chinach, a następnie na inne kraje na całym świecie. W dniu 30 stycznia 2020 r. WHO uznała wybuch COVID-19 za stan zagrożenia zdrowia publicznego o zasięgu międzynarodowym, stwarzającym duże zagrożenie, zwłaszcza dla krajów o wrażliwych systemach opieki zdrowotnej (WHO, 2020). W Polsce pierwszy przypadek COVID-19 został potwierdzony 4 marca 2020 w szpitalu w Zielonej Górze, gdzie zdiagnozowano zachorowanie 66-letniego mężczyzny. Na dzień 7 lutego 2021 r. 39 087 potwierdzonych zgonów spowodowanych COVID-19 zostało oficjalnie zgłoszonych przez Ministerstwo Zdrowia, w tym 2337 w województwie pomorskim.

SARS-CoV-2 jest wirusem o kolistym kształcie cząsteczki otoczonej wyraźnymi wypustkami białkowymi (koroną), którego materiał genetyczny stanowi pojedyncza nić RNA. Wielkość genomu SARS-CoV-2 oszacowano na około 30 tysięcy nukleotydów, co czyni go jednym z największych wirusów RNA. Genom koduje białka strukturalne (odpowiedzialne głównie za formowanie jego cząsteczek i interakcję z receptorami na powierzchni komórek gospodarza), białka niestrukturalne (konieczne do replikacji wirusa) oraz białka pomocnicze.

Główną drogą przenoszenia SARS-CoV-2 jest droga kropelkowa, czyli aerozole z dróg oddechowych generowane przez kaszel, kichanie i mówienie. Zakażenie SARS-CoV-2 może wpływać nie tylko na układ oddechowy, powodując gorączkę, kaszel, wyciek z nosa, duszność lub ciężkie zapalenie płuc, ale może również powodować inne objawy kliniczne, takie jak letarg, ból mięśni, ból głowy, objawy neurologiczne lub żołądkowo-jelitowe (np. biegunkę). Ta złożoność objawów jest związana z faktem, iż receptorem docelowym wirusa SARS-CoV-2 jest enzym konwertujący angiotensynę 2 (ACE2), którego dystrybucję i ekspresję stwierdzono w 72 tkankach ludzkich, głównie układu sercowo-naczyniowego, w płucach, nerkach i w układzie pokarmowym. Uzyskane dane kliniczne wykazują, że wśród pacjentów z COVID-19 dominują objawy ze strony układu oddechowego, podczas gdy dysfunkcję jelit zgłaszano wśród 11% chorujących. Obecnie wskaźnik zakażeń COVID-19 wyznacza się na podstawie danych klinicznych (czyli głównie u osób hospitalizowanych lub leczonych ambulatoryjnie), podczas gdy 80% zakażeń SARS-CoV-2 może przebiegać w sposób bezobjawowy, lub z nieswoistymi/łagodnymi objawami, które nie są rejestrowane.

Fakt ten zaowocował próbą opracowania monitoringu środowiskowego, zwanego **epidemiologią opartą na ściekach** (z ang. **Wastewater-Based Epidemiology, WBE**), jako dodatkowego narzędzia wspierającego działania zapobiegawczo-kontrolne COVID-19 w wielu regionach świata jak Australia, Holandia, Francja, Hiszpania, Włochy, Japonia, Chiny, Indie i Stany Zjednoczone (Ahmed et al., 2020a; Farkas et al., 2020; Haramoto et al., 2020; Hart and Halden, 2020; Kumar et al., 2020; La Rosa et al., 2020; Mao et al., 2020; Medema et al., 2020; Randazzo et al., 2020; Wurtzer et al., 2020).

WBE opiera się na założeniu, że każdą stabilną substancję, która jest wydalana przez organizm ludzki i utrzymuje się w ściekach, możemy określić a następnie obliczyć jej stężenie/ładunek, który jest wydalany przez daną populację obsługiwaną przez oczyszczalnię ścieków bytowo-gospodarczych. Taką samą koncepcję można zastosować do analizy patogenów w kanalizacji sanitarnej dla danej populacji, gdy są one wydalone z kałem/moczem osób zakażonych. Może być to niezwykle użyteczne

narzędzie do analizy np. ilości i jakości przyjmowanych farmaceutyków przez daną populację, ilości zakażeń dla analizowanego patogenu, zwłaszcza gdy zasoby dla diagnostyki klinicznej są ograniczone (brak możliwości przetestowania większej ilości społeczeństwa) oraz gdy systemy raportowania są nieefektywne. W przypadku zachorowań na COVID-19, fragmenty wirusa SARS-CoV-2 stwierdzano w kale niezależnie od przebiegu choroby. Liczebność materiału genetycznego (z ang. gene copy, gc) w wymazach nosowo-gardłowych osób chorych była jednak znacząco wyższa (ok. 105–1011 gc/mL) niż w moczu (ok. 102–105 gc / mL) czy kale (ok. 102–107 gc/mL).

Sytuacja pandemiczna dotknęła wszystkie sektory, jednak operatorzy tzw. jednostek strategicznych (np. stacje uzdatniania wody (SUW), oczyszczalnie ścieków (OŚ), sektor energetyczny itd.) są w szczególnej sytuacji gdyż pomimo wysokiego ryzyka zakażenia SARS-CoV-2 muszą zapewnić tym jednostkom ciągłość działania. Dla operatorów oczyszczalni ścieków i stacji uzdatniania wody, sytuacja która pojawiła się w marcu 2020 była niespotykana, niezbadana, a podejmowane decyzje i procedury operatorów OŚ i SUW były wynikiem własnego rozsądku i intuicji ze względu na brak systemowych i formalnych rozwiązań. Gdańska Fundacja Wody (GFW) w odpowiedzi na sytuację chcąc wesprzeć przedsiębiorstwa wodno-kanalizacyjne organizowała co dwa tygodnie internetowe Forum dyskusyjne „Kawa wod-kan” dla polskich przedsiębiorstw wodno-kanalizacyjnych będących operatorami OŚ i SUW. Umożliwiło to komunikację i wymianę doświadczeń między uczestniczącymi podmiotami. Dyskusja podczas Forum pokazała, że istnieje duże zainteresowanie wśród przedsiębiorstw w zakresie analizy ścieków na zawartość SARS-CoV-2 i przyjrzenia się bliżej możliwościom identyfikacji wirusa w ściekach oraz wykorzystania go jako wskaźnika rozprzestrzeniania się pandemii. Dodatkowo istotną informacją dla całej branży, a na którą nikt nie umiał odpowiedzieć na początku wybuchu pandemii, było często zadawane pytanie: czy ścieki mogą być transmiterem zakażeń? Jednocześnie uczestnicy zwracali uwagę, że w ich budżecie nie było środków na takie działania i nie posiadali wiedzy jak takie badania można przeprowadzić.

W związku z powyższym GFW zwróciła się do WFOŚiGW w Gdańsku z wnioskiem o finansowanie analizy ścieków komunalnych na jednej z pomorskich oczyszczalni.

Projekt WFOŚ/D/355/4769/2020 „COViŚ” p.n. „Analiza COVID-19 w ściekach komunalnych w województwie pomorskim” otrzymał dofinansowanie w formie dotacji do kwoty 39.200,00 zł.

2. Zakres

Na obiekt, w którym prowadzone były badania w ramach projektu COVIŚ została wybrana Grupowa Oczyszczalnia Ścieków „DĘBOGÓRZE”.

Doprowadzane są do niej ścieki komunalne z terenu Gdyni, Rumii, Redy, Wejherowa i innych mniejszych, okolicznych miejscowości i obejmująca swoim działaniem powiaty: pucki, wejherowski i gdyński.

W czasie planowania projektu obszar ten wykazywał jedną z najwyższych ilości zakażonych osób SARS-CoV-2 w województwie pomorskim.

Akredytowanego poboru prób na OŚ „Dębogórze” dokonali specjaliści PEWIK Gdynia Sp. z o.o.

Pobór odbywał się w warunkach reżimu sanitarnego, w celu maksymalnego ograniczenia skażenia pobieranego materiału własnymi patogenami, w tym SARS-CoV-2

W celu poddania analizie na obecność SARS-CoV-2 pobrano łącznie 9 próbek z których:

9 poddano analizie jakościowej z określeniem stężenia wyizolowanego RNA w laboratorium w Polsce.

6 poddano analizie ilościowej w laboratorium w Holandii.

Próbki były pobierane jako próba średniodobowa (proporcjonalna do przepływu) i zbierane w dwóch seriach badawczych

I seria – od 17.11.2020 do 25.11.2020

II seria – od 30.11.2020 do 3.12.2020

Średniodobowe próbki ścieków pobierane były za pomocą automatycznego samplera.

Próbki pobierane w ramach 3-dniowych kampanii pomiarowych były przeznaczone do analizy jakościowej i ilościowej. Zebrane próby rozdzielano na dwie części.

Pierwsza - trafiała do laboratorium w Polsce, druga - była przechowywana w 4°C do zakończenia 3-dniowej kampanii pomiarowej, a następnie wysyłana do Holandii, również z zachowaniem 4°C podczas transportu.

W przypadku próbek, dla których wykonywano tylko analizę jakościową, po pobraniu próbkę od razu w lodówce transportowano do laboratorium.

3. Metodyka badań

3.1 Analizy fizyko-chemiczne jakości ścieków surowych i oczyszczonych wykonywano w próbach średniodobowych.

Zakres analiz fizyko-chemicznych obejmował następujące parametry:

- odczyn
- przewodnictwo właściwe
- potencjał redox
- stężenie zawiesiny ogólnej (ZO)
- stężenie fosforu ogólnego (TP)
- stężenie fosforu fosforanowego (P-PO₄)
- stężenie azotu ogólnego (TN)
- stężenie azotu amonowego (N-NH₄)
- stężenie azotu azotanowego (N-NO₃)
- stężenie azotu azotynowego (N-NO₂)
- wartość chemicznego zapotrzebowania na tlen (ChZT)
- wartość biologicznego zapotrzebowania na tlen (BZT₅)

Oznaczenia wykonano zgodnie z:

- oznaczanie **azotu ogólnego, azotu amonowego, azotu azotynowego, azotu azotanowego, fosforu ogólnego, fosforu fosforanowego, chemicznego zapotrzebowania na tlen** - metoda spektrofotometryczna z zastosowaniem testów kuwetowych Hach Lange (metodyka zgodna z APHA 1992),
- oznaczanie **BZT₅** – PN-EN 1899-1:2002 - Oznaczenie biochemicznego zapotrzebowania tlenu po n dniach. Część 1: Metoda rozcieńczania i szczepienia z dodatkiem allilotiomocznika. Przy użyciu OxiTop Control (WTW),
- oznaczanie **pH** - metoda potencjometryczna z zastosowaniem elektrody jonoselektywnej PN-90/C-04540.01. Przy użyciu miernika HQ40d multi firmy Hach,
- oznaczanie **przewodności właściwej** – PN-EN 27888:1999 Jakość wody. Oznaczenie przewodności elektrycznej właściwej. Przy użyciu miernika HQ40d multi firmy Hach
- oznaczenie **potencjału redox** - metoda elektrometryczna, przy użyciu miernika HQ40d multi firmy Hach
- oznaczanie **zawiesiny** – metoda wagowa - PN-72/C-04559.02:1972 + Ap:2007 – Woda i ścieki. Badania zawartości zawiesin. Oznaczenie zawiesin ogólnych, mineralnych i lotnych metodą wagową.

3.2 Wykrywanie materiału genetycznego wirusa SARS-CoV-2 w ściekach

Jakościowe wykrywanie wirusa SARS-CoV-2

Kompozytowe próbki ścieków surowych o objętości V=200 ml były w temperaturze 4°C wirowane, utrwalane i transportowane do firmy A&A Biotechnology. Izolację RNA przeprowadzono autorską metodą firmy A&A Biotechnology. Wyizolowane RNA zawieszono w 1 ml wody. Obecność RNA wirusa Covid-19 w badanych próbach potwierdzono za pomocą **łańcuchowej reakcji polimerazy RT-PCR** (z ang. *reverse transcription polymerase chain reaction*) z użyciem sond typu Taq – Man.

Ilościowe wykrywanie wirusa SARS-CoV-2

Ilościowe badania genetyczne w kierunku SARS-CoV-2 wykonywane są z zastosowaniem ilościowej metody RT-qPCR, w którym zgodnie z referencjami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) oraz Państwowego Zakładu Higieny (PZH) identyfikowane były geny kodujące białka strukturalne: (I) spośród genów wspólnych dla podrodzaju *Sarbecovirus* - gen E, kodujący białka płaszcza (z ang. *envelope*) i odpowiedzialne m.in. za formowanie wirionów oraz (II) spośród charakterystycznych wyłącznie dla SARS-CoV-2 - gen N2 – kodujący białka nukleokapsydu (N), pełniące funkcję ochronną dla dużej cząsteczki RNA oraz uczestniczące w modyfikacji procesów komórkowych i replikacji wirusa.

Ilościowe wykrywanie wirusa crAssphage

W próbach ścieków analizowano również występowanie materiału genetycznego wirusa crAssphage, który wchodzi w skład flory bakteryjnej przewodu pokarmowego człowieka. crAssphage jest wykorzystywany obecnie jako wirusowy wskaźnik fekalnego skażenia różnych nisz ekologicznych. Jest to bardzo istotne w systemach kanalizacyjnych, w których ścieki bytowe mieszane są ze ściekami przemysłowymi w zmiennym i dynamicznie stosunku a także z wodami opadowymi. W analizie wyników zastosowano zatem znormalizowany wskaźnik $N2_{norm} = N2/crAssphage$, pozwalający na porównywanie analizowanej próby (zlewni) między sobą.

4. Wyniki badań

Uzyskane wyniki analiz jakości ścieków surowych i oczyszczonych pobieranych w ramach kampanii pomiarowych przedstawiono w tabeli nr 1.

Tabela 1. Jakość ścieków surowych i oczyszczonych w analizowanych próbkach średniodobowych z Oczyszczalni Ścieków Dębogórze

parametr	Data poboru																
	17.11.2020	18.11.2020		19.11.2020		25.11.2020		01.12.2020		02.12.2020		03.12.2020		09.12.2020		16.12.2020	
	S	S	O	S	O	S	O	S	O	S	O	S	O	S	O	S	O
pH	7,43	7,47	7,98	7,56	8,01	7,45	7,87	7,8	7,64	7,54	7,83	7,52	7,41	6,88	7,71	7,06	7,15
redox [mV/cm]	-327,3	-260,3	6,4	-290,4	22,8	-211,9	49,8	-259,6	-73,9	-113,3	15,1	-240,6	-10,3	-227,5	26,7	-260,2	4,3
przewod [mS/cm]	1,571	1,414	1,141	1,437	1,149	1,521	1,205	1,471	1,112	1,427	0,946	1,423	1,16	1,495	1,552	1,534	1,544
TP [mg/dm ³]	13,8	14	0,54	11,93	0,836	6,54	1,06	8,31	0,939	8,83	0,588	10,1	0,959	9,48	0,663	8,69	0,63
P-PO ₄ [mg/dm ³]	8,57	7,76	0,655	7,48	0,641	5,94	0,958	7,48	0,835	6,39	0,496	9,59	0,886	7,86	0,552	7,78	0,592
TN [mg/dm ³]	88,2	98	24,3	99	13,3	72,9	15,5	82	17,9	95,6	23,4	95	22,1	77,7	7,36	76,4	6,5
N-NH ₄ [mg/dm ³]	72,4	58,4	0,273	68,3	0,062	69,8	0,235	64,8	0,982	69,7	0,595	74,9	0,63	61,2	0,145	72,6	0,103
N-NO ₃ [mg/dm ³]	1,29	1,23	4,21	1,14	4,2	1,29	4,4	0,647	4,73	0,637	4,3	0,713	5	0,549	5,1	0,451	4,74
N-NO ₂ [mg/dm ³]	0,288	0,259	0,091	0,32	0,066	0,188	0,16	0,212	0,082	0,268	0,059	0,311	0,098	0,084	0,326	0,048	0,484
ChZT [mg/dm ³]	1400	1200	32,5	1100	32,7	940	34,2	1200	33,2	1100	32,6	1100	32,8	1100	30,5	1200	31
BZT ₅ [mg/dm ³]	592	462	-	546	-	470	-	550	-	524	1,1	611	-	560	-	330	-
SO ₄ ²⁻ [mg/dm ³]	138	134	103	149	102	109	103	135	121	141	120	133	117	80,4	93	60,6	88
Cl ⁻ [mg/dm ³]	92,2	100,1	99,8	101,9	110,7	67,2	86,3	98,2	99,9	101,2	92,9	99,8	99,2	100,9	106,8	102,8	95,54
zaw. [mg/dm ³]	610	820	1,6	590	2,1	570	1,8	510	2,4	460	1,8	500	2,5	610	2,2	560	1,9
sulfaktanty kationowe [mg/dm ³]	5,37	0,437	< 0,2	10,1	< 0,2	8,22	< 0,2	6,22	< 0,2	7,28	< 0,2	5,91	< 0,2	< 0,2	0,065	0,201	0,07
sulfaktanty niejonowe [g/dm ³]	0,842	0,571	0,116	0,533	0,118	0,475	0,126	0,629	0,115	0,542	0,118	0,882	0,111	0,148	0,111	0,13	0,115
sulfaktanty anionowe [mg/dm ³]	6,88	3,5	0,901	9,06	0,929	7,88	0,895	7,81	0,823	6,57	0,792	9,01	0,855	6,68	0,321	6,07	0,283
stężenie wyizolowanego RNA [ug/L]A&ABiotechnol ogy	10	3	-	8,2	-	5,7	-	11,3	-	13	-	10	-	11	-	12	-
ChZT/BZT ₅	2,4	2,6		2,0		2,0		2,2		2,1	29,6	1,8		2,0		3,6	
Przepływ [m ³ /d]	56 618	57 298		57 129		59 230		57 304		57 141		58 257		56 477		58 552	

S - ścieki surowe; O – ścieki oczyszczane

Wyniki analiz przekazane przez Instytut KWR w Holandii wraz z zachorowalnością osób w zlewni oczyszczalni ścieków w Gdyni Dębogórze przedstawiono w Tabeli nr 2. Liczbę zakażonych SARS-CoV-2 analizowano dla całej zlewni oczyszczalni: miście Gdynia, powiecie wejherowskim, i puckim

<https://koronawirusnas.pl/>; <http://www.wsse.gda.pl/aktualnosci-i-komunikaty/aktualnosci/1755-raport-z-dnia-16-listopada-2020-roku-na-temat-sars-cov-2-w-województwie-pomorskim>

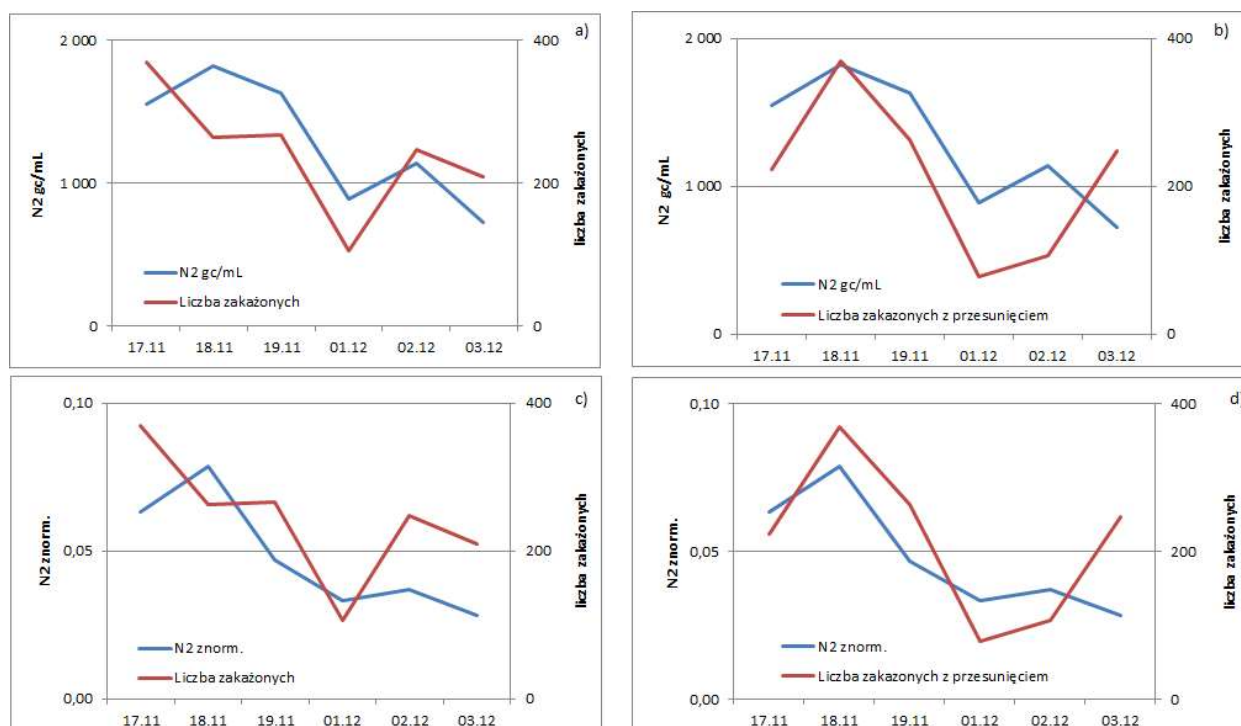
Tabela 2. Uzyskane wartości parametrów wymagane do analizy zależności obecności wirusa Sars-COV-2 w ściekach surowych (próbka średniodobowa) od zachorowalności.

Parameter	Data poboru					
	17.11.2020	18.11.2020	19.11.2020	01.12.2020	02.12.2020	03.12.2020
	S	S	S	S	S	S
N2 mean gc/mL	1,55E+03	1,82E+03	1,63E+03	8,88E+02	1,14E+03	7,22E+02
N2 std gc/mL	3,48E+02	1,00E+02	5,12E+00	8,50E+01	8,34E+01	5,86E+00
E mean [Ct]	2,86E+01	2,85E+01	2,85E+01	2,93E+01	2,92E+01	2,94E+01
E std [Ct]	7,78E-02	3,54E-02	1,48E-01	4,24E-02	5,66E-02	3,54E-02
CrAssphage mean gc/mL	2,5E+04	2,3E+04	3,5E+04	2,7E+04	3,1E+04	2,5E+04
CrAssphage std gc/mL	3,0E+03	6,9E+02	9,2E+02	5,2E+03	3,8E+03	1,2E+03
N2 normalized	6,32E-02	7,87E-02	4,68E-02	3,33E-02	3,71E-02	2,83E-02
zachorowania w dniu poboru	369	263	267	106	247	209
zachorowania 24 h przed poborem	223	369	263	78	106	247

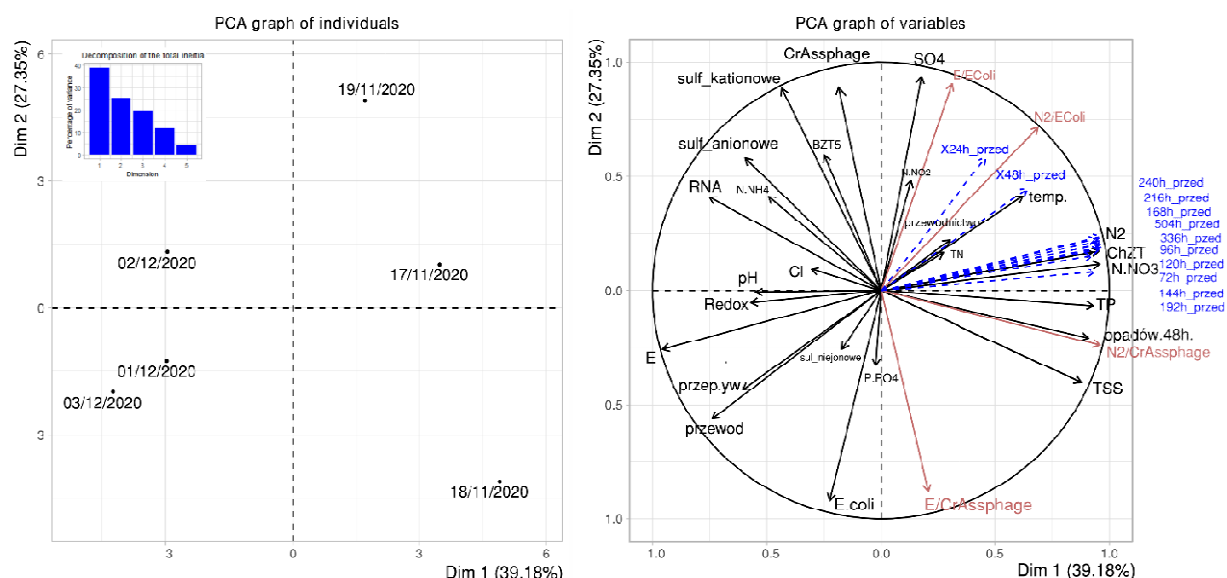
S – ścieki surowe

Tabela 3. Wyniki analiz jakościowych i izolacji RNA.

Numer próbki	Opis próbki	Stężenie wyizolowanego RNA [µg/ml]	Obecność RNA Covid-19
1	RNA 17.11.2020	10.0	potwierdzona
2	RNA 18.11.2020	3.0	potwierdzona
3	RNA 19.11.2020	8,2	potwierdzona
4	RNA 25.11.2020	5,7	potwierdzona
5	RNA 01.12.2020	11,3	potwierdzona
6	RNA 02.12.2020	13.0	potwierdzona
7	RNA 03.12.2020	10.0	potwierdzona
8	RNA 09.12.2020	11.0	potwierdzona
9	RNA 16.12.2020	12.0	potwierdzona



Rys. 1. Liczba zakażonych SARS-CoV-2 w dniu poboru próbki ścieków (a i c) i 24 h wcześniej (b i d) - w celu uwzględnienia czasu zatrzymania ścieków w sieci kanalizacyjnej oraz ilość kopii genu N2 stwierdzoną w mililitrze ścieków surowych [N2 gc/mL] (a i b) oraz znormalizowany wskaźnik ilość kopii genu N2 w odniesieniu do materiału kałowego zawartego w próbce ścieków [$N2\ znorm = N2/CrAssphage$] (c i d)



Rys. 2. Analiza statystyczna głównych składowych (PCA – principal component analysis) uzyskanych wyników badań (Tabela 1-2), przeprowadzona w celu stwierdzenia potencjalnych korelacji pomiędzy parametrami ścieków. W analizie uwzględniono liczbę zachorowań na SARS-CoV-2 w dniu poboru ścieków oraz z 24 h interwałem poprzedzającym pobór (dane zaznaczone na niebiesko)

Na podstawie wykonanych badań (Rys. 1) stwierdzono, że zawartość materiału genetycznego wirusa SARS-CoV-2 (wyrażona jako gc - ilość kopii genu N2 kodujących nukleotydy) w ściekach dopływających na oczyszczalnię wahała się od $4,32 \times 10^{13}$ do $1,09 \times 10^{14}$ gc/dobę.

Ilość kopii genu N2 korelowała istotnie z ilością zachorowań odnotowywanych w zlewni oczyszczalni w szczególności poprzedzających czas poboru próby ścieków surowych o więcej niż 24 h (Fig. 2). Ilość kopii genu N2 korelowała również z parametrami ścieków takimi jak ChZT i azotany (respective correlation ≥ 0.90). Nie stwierdzono natomiast korelacji z ilością bakterii coli typu kałowego (*E. coli*).

W przypadku znormalizowanego wskaźnika [$N2_{znorm} = N2/CrAssphage$] odnoszącego ilość kopii genu N2 do stężenia materiału kałowego zawartego w próbce ścieków, wskaźnik ten istotnie korelował z ilością zawiesiny, ilością opadów i fosforem całkowitym.

Analiza jakościowa potwierdziła obecność wirusa SARS-CoV-2 w każdej pobieranej próbce.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że ścieki surowe mogą stanowić istotne narzędzie predykcji epidemii SARS-CoV2. Należy jednak zaznaczyć, iż zarówno uzyskane dane jak i obliczone korelacje bazują na niewielkiej liczbie powtórzeń i aby uzyskać pełen obraz zależności, monitoring ścieków należałoby prowadzić w dłuższym horyzoncie czasowym. Dane literaturowe wskazują, iż cząsteczki wirusa SARS-CoV2 w ściekach nie wykazują zjadliwości (Lodder and de Roda Husman 2020).

5. Efekt ekologiczny

Wirus SARS-CoV-2 wywołuje chorobę COVID-19, która powoduje zagrożenie życia u osób zakażonych. Zjadliwość wirusa SARS-CoV-2 jest na tyle wysoka, że najlepsze systemy zdrowotne (o najwyższym dofinansowaniu w stosunku do PKB kraju) nie są wydolne w obliczu pandemii. Dlatego też, większość krajów na świecie podjęła decyzję o całkowitym, lub częściowym 'lock down'. Pandemia ma ogromny wpływ na środowisko i klimat. Ze względu na ograniczenie ruchu i znaczne spowolnienie działalności społecznej i gospodarczej w wielu miastach poprawiła się jakość powietrza oraz odnotowano spadek zanieczyszczeń wody w różnych częściach świata. Jednak negatywny wpływ na środowisko jest również widoczny i związany ze zwiększonym stosowaniem środków dezynfekcji i środków ochrony indywidualnej (np. maski na twarz, rękawiczki itp.) i ich nieprawidłową utylizacją. Rozprzestrzenianie się wirusa SARS-CoV-2 i przeciwdziałanie jego dalszemu transmisji wpływa m.in. na:

- **Wzrost wytwarzania odpadów w tym odpadów biomedycznych**

Od wybuchu COVID-19 na całym świecie rośnie ilość odpadów medycznych, co stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego i środowiska. W celu pobrania próbek od podejrzanych o zakażenie pacjentów, diagnozy, leczenia ogromnej liczby pacjentów i w celach dezynfekcji w szpitalach generowanych jest wiele odpadów zakaźnych i biomedycznych (Somani i in., 2020; Zambrano-Monserrate i in., 2020). Na przykład Wuhan w Chinach wyprodukował ponad 240 ton metrycznych odpadów medycznych dziennie w czasie wybuchu epidemii (Saadat i in., 2020), czyli o prawie 190 mln ton więcej niż w czasie przed pandemią (Zambrano-Monserrate i in., 2020). Tak gwałtowny wzrost ilości odpadów niebezpiecznych i ich właściwe zagospodarowanie stało się dużym wyzwaniem dla lokalnych władz zajmujących się gospodarką odpadami. Zgodnie z najnowszą opublikowaną literaturą wirus SARS-CoV-2 może przeżyć na tekturze jeden dzień i do 3 dni na tworzywach sztucznych i stali nierdzewnej (Van-Doremalen i in., 2020). Zatem odpady wytwarzane w szpitalach (np. igły, strzykawki, bandaże, maski, rękawiczki, zużyta chusteczka, wyrzucone leki itp.) powinny być odpowiednio zagospodarowane, aby zmniejszyć dalsze ich rozprzestrzenianie się, a tym samym wirusa SARS-CoV-2 w środowisku.

Rośnie również ilość odpadów związana ze zwiększonym zużyciem środków ochrony indywidualnej (m.in. maseczki, rękawiczki, opakowania jednorazowe). Od wybuchu COVID-19 produkcja i stosowanie środków ochrony indywidualnej na bazie tworzyw sztucznych wzrasta na całym świecie (Singh i in., 2020). Jednak ze względu na brak wiedzy na temat zarządzania odpadami zakaźnymi duża część wyrzucana jest (np. maski na twarz, rękawiczki itp.) wraz z odpadami generowanymi w domu lub trafiają do otwartych przestrzeni. Brak racjonalnej gospodarki tego typu odpadami wpływa również na inne gałęzie i może powodować m.in. zatykanie sieci kanalizacyjnych i pogorszenie jakości oczyszczania ścieków, a tym samym wzrost zanieczyszczenia zbiorników wodnych, stanowiących ich odbiornik (Singh i in., 2020; Zambrano-Monserrate i in., 2020). Ponadto, maski i inny sprzęt ochronny na bazie tworzyw sztucznych są potencjalnym źródłem mikroplastików w środowisku (Fadare i Okoffo, 2020). Zwykle do produkcji masek N-95 używany jest polipropylen, a Tyvek do kombinezonów ochronnych, rękawic i medycznych osłon twarzy. Ich czas rozkładu jest długi, a jako produkty uboczne tego procesu mogą uwalniać się do środowiska dioksyny i inne toksyczne związki (Singh i in., 2020).

- **Wytwarzanie komunalnych odpadów stałych i ograniczenie recyklingu**

Z powodu 'lock down' w czasie pandemii, w wielu krajach nastąpił wzrost popytu na zakupy online z dostawą do domu, co ostatecznie zwiększa ilość odpadów bytowych m.in. z wysyłanych opakowań (Somani i in., 2020; Zambrano-Monserrate i in. al., 2020). Ponadto zmieniła się struktura odpadów (obserwacje własne), m.in. nastąpił wzrost odpadów biodegradowalnych generowanych przez gospodarstwa domowe (spowodowany wzrostem zakupów żywności), na który wiele obiektów służących zagospodarowaniu odpadów nie była przygotowana. Ponadto w wielu krajach europejskich: m.in. Wielka Brytania, Włochy wprowadzono zakaz sortowania odpadów pochodzących z gospodarstw domowych objętych kwarantanną (Zambrano-Monserrate i in., 2020). Spowodowało to zwiększenie składowania odpadów i wprowadziło dodatkowe zakłócenie rutynowej gospodarki odpadami komunalnymi, w tym odzysku i recyklingu odpadów.

- **Inne skutki dla środowiska**

Pandemia to również zwiększone ilości środków dezynfekujących szczególnie stosowane w obszarach komercyjnych i mieszkalnych w celu eksterminacji wirusa SARS-CoV-2. Masowe stosowanie środków dezynfekujących może dezaktywować nie tylko cząsteczki wirusa SARS-CoV-2, ale i inne mikroorganizmy, stanowiące fizjologiczny mikrobiom człowieka (Islam i Bhuiyan, 2016). Zwiększona ilość środków dezynfekcyjnych może działać również negatywnie na proces oczyszczania ścieków oparty o mikrobiocenozę osadu czynnego, i powodować niższą efektywność usuwania zanieczyszczeń ze ścieków, a w konsekwencji wzrost ilości zanieczyszczeń odprowadzanych do odbiornika (strumieni, rzek, jezior, mórz). Zwiększona ilość środków dezynfekcyjnych ma ponadto ogromny wpływ na selekcję opornych szczepów bakteryjnych i szerzenia się zjawiska lekooporności bakterii (ECDC, 2021). Ponadto nadużywanie antybiotyków podczas pandemii COVID-19 może również przyspieszyć ten proces, a należy zaznaczyć, iż zakażenia wywoływane przez bakterie oporne na antybiotyki stanowią aktualnie jedno z najistotniejszych wyzwań w sektorze zdrowia publicznego.

Dlatego też skuteczna, rzeczywista, szybka i łatwa analiza zachorowalności wśród populacji jest niezwykle istotna, żeby podejmować decyzje o obostrzeniach, zamknięciach/otwarciach działalności gospodarczej w danym kraju i związanych z tym skutkami w jak najbardziej racjonalny i prawidłowy sposób. Obecny, oparty na badaniach klinicznych wskaźnik zakażeń COVID-19 może nie rejestrować nawet 80% zakażeń SARS-CoV-2, przebiegających niespecyficznie i bezobjawowo. Podejście takie ogranicza nie tylko możliwości właściwej oceny epidemiologii wirusa SARS-CoV-2, ale również wczesnego wykrywania ognisk zakażeń i przeciwdziałania ich szerzeniu. **Na podstawie wyników uzyskanych w ramach projektu COVIŚ znakomitym narzędziem wspomagającym badania kliniczne epidemiologiczne, jest monitoring ścieków w aspekcie ilościowej i jakościowej obecności materiału genetycznego wirusa SARS-CoV-2. Badania te wskazują na 'rzeczywistą' ilość zachorowań w zlewni danej oczyszczalni (niezależnie od przebiegu choroby) oraz odzwierciedlają ich tendencję (wzrostową lub malejącą).** Jest to narzędzie, które nie wymaga zgody użytkowników danej infrastruktury kanalizacyjnej na przeprowadzenie badań tego typu, nie potrzeba oświadczeń o RODO itd. Pozwala na szybką analizę (już po 4 h możemy uzyskać wynik), co jest niezwykle istotne w 'sterowaniu predykcyjnym' podejmowanymi decyzjami na szczeblu krajowym. Wdrożenie tego narzędzia do okresowej lub codziennej analizy jakości ścieków pozwoli m.in. na racjonalne stosowanie związków powierzchniowo czynnych oraz środków dezynfekcyjnych, środków ochrony osobistej itd. Badanie obecności SARS-CoV-2 w ściekach, może być także traktowane jako wskaźnik 'predykcji' epidemii lub śledzenia nowych źródeł zakażeń. **Głównym efektem ekologicznym, osiągniętym w ramach realizacji projektu COVIŚ jest potwierdzenie, iż obraz monitoringu klinicznego i monitoringu ścieków pozwoli na szybkie reagowanie i podejmowanie właściwych decyzji.** Jest to szczególnie istotne w ograniczaniu szerzenia epidemii, pozwoli bowiem nie tylko na prawidłowe wykorzystanie środków publicznych na walkę z epidemią ale i ich właściwą alokację.

Szybka predykcja SARS-CoV-2 oprócz aspektów socjoekonomicznych m.in. ograniczenia redukcji etatów, ograniczenia negatywnego wpływu izolacji i związanych z tym konsekwencji dla mieszkańców, a które pojawią się w późniejszym czasie, a mogą mieć równie negatywne albo gorsze skutki niż sama pandemia (serie samobójstw, choroby psychiczne, choroby o podłożu autoimmunologii agresywnej, zawały serca, otyłość, cukrzyca itd.). Racjonalne sterowanie gospodarką i podejmowanie decyzji w zależności od sytuacji pandemicznej określonej na podstawie wiarygodnego i niepodważalnego narzędzia określającego trend zakażeń poprawi jakość środowiska, poprzez racjonalne zarządzanie środkami ochrony osobistej i środkami dezynfekcyjnymi. Również ograniczy niepotrzebne zamknięcia poszczególnych sektorów gospodarki, będzie można to zrobić wcześniej, zanim pandemia się rozprzestrzeni, albo później w zależności od widocznego trendu i czego nie jesteśmy w stanie osiągnąć badając bezpośrednio populację. Przyczyni się do szybszego otwarcia gospodarki w momencie trendu spadkowego (będziemy mieli pewność, że nie jest to sztucznie spadek w wyniku ograniczonej ilości przeprowadzanych testów np. z powodu niezgłaszania się osób objawowych, czy dużej ilości osób bezobjawowych).

Efekt długoterminowym projektu będzie możliwość podniesienie jakości życia mieszkańców regionu, w dobie pandemii SARS-CoV-2, w którym analiza 'predykcyjna' pozwoli na szybkie podjęcie określonych procedur w przypadku istotnego zagrożenia zakażeniem SARS-CoV-2, co ograniczy jej skutki socjologiczne, gospodarcze, ekonomiczne i środowiskowe. Wdrożenie tego narzędzia przetestowanego w ramach tego projektu pozwoliłoby na szybszy powrót województwa pomorskiego (lub całego kraju, w zależności od skali wdrożenia) do tempa rozwoju sprzed pandemii, a także ograniczyć skutki niewidoczne bezpośrednio: izolację dzieci, ograniczony ich rozwój społeczny, depresję w wyniku izolacji, utraty pracy itd.

Należy zaznaczyć, iż monitoring ścieków jest narzędziem, które może być wykorzystywane nie tylko w epidemiologii SARS-CoV-2 ale również innych zakażeń wirusowych. Nie bez znaczenia jest również możliwość wykorzystania monitoringu ścieków do śledzenia skuteczności szczepionek i wykrywania innych istotnych tendencji, np.: zachorowalności na choroby społeczne czy też szerzenie zjawiska lekooporności.

6. Dodatkowe informacje

Bardzo istotną kwestią podczas pandemii jest uzyskiwanie wiarygodnych informacji, w tym wymiana doświadczeń w nowej i nieznanej dla wszystkich sytuacji. Szczególnie istotne jest to dla obiektów strategicznych, których sytuacja kryzysowa nie zwalania z działalności w tym oczyszczalni ścieków, stacji uzdatniania wody itd.

Wśród organizacji, gdzie można uzyskać wiarygodne dane i informacje, które są często aktualizowane należy wymienić: CDC (Centers for Disease Control and Prevention), WHO (World Health Organization), OSHA (Occupational Safety and Health Administration).

Ponadto dostępne są poniższe opracowania, przewodniki, raporty, artykuły i blogi:

Materiały dla operatorów OŚ

- Wprowadzenie hierarchii kontroli dla ochrony pracowników OŚ:
<https://www.wef.org/globalassets/assets-wef/news-hub/coronavirus/wastewater-worker-safety-controls.png>
- Przewodnik dla branży wod-kan opowiadają nowemu koronawirusowi 2019:
<https://www.wef.org/news-hub/wef-news/the-water-professionals-guide-to-the-2019-novel-coronavirus/>
- Przewodnik dla pracowników OŚ
<https://www.osha.gov/SLTC/covid-19/controlprevention.html>
- Informacje dotyczące COVID-19 dla sektora wod-kan przez WEF:
<https://www.wef.org/news-hub/current-priorities/coronavirus/#watersector>
Przedsiębiorstwa wod-kan w pandemii COVID-19
- Europejska Agencja Ochrony środowiska
<https://www.epa.gov/coronavirus/water-utility-resources-covid-19-pandemic>
- COVID19 waterblog
<https://covid19waterblog.wordpress.com/>
- Global Water Intelligence. Strona aktualizowany prawie codziennie. Pandemia koronawirusa i jej wpływ na wodociągi, firmy i międzynarodowy łańcuch dostaw:
https://www.globalwaterintel.com/articles/topic/coronavirus?utm_content=buffer6229b&utm_medium=social&utm_source=linkedin.com&utm_campaign=buffer
- Centrum Informacji nt. Nowego Koronawirusa przez Elsevier
https://www.elsevier.com/connect/coronavirus-information-center?dgcid=SD_banner
SARS-CoV-2 w ściekach: stan wiedzy i potrzeby badawcze
- Pierwsze potwierdzone wykrycie SARS-CoV-2 w nieoczyszczonych ściekach w Australii: dowód koncepcji monitorowania COVID-19 w społeczności poprzez analizę ścieków.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720322816>
- Jest to przegląd aktualnych wyników badań dotyczących SARS-CoV-2 w ściekach wraz z aktualizacją wytycznych na temat epidemiologii opartej na ściekach.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720325936?via%3Dihub>
- COVID-19: Implikacje środowiskowe zrzucania SARS-CoV-2 w odchodach ludzkich
<https://covid19waterblog.wordpress.com/2020/05/25/covid-19-the-environmental-implications-of-shedding-sars-cov-2-in-human-faeces/>
- Krajowy system nadzoru ścieków (NWSS). Nowe narzędzie dla kontroli zdrowia publicznego i zrozumienia rozprzestrzeniania się COVID-19 w społeczeństwie:
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/wastewater-surveillance.html>
- ECDC, 2021: <https://antibiotic.ecdc.europa.eu/en>

Literatura

1. Ahmed, A., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., O'Brien, J.W., Choi, P.M., Kitajima, M., Simpson, S.L., Li, J., Tschärke, B., Verhagen, R., Smith, W.J.M., Zaugg, J., Dierens, L.,
2. ECDC, 2021. Single Programming Document 2021–2023
(<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/single-programming-document-2021-2023>)
3. Fadare O.O., Okoffo E.D. Covid-19 face masks: a potential source of microplastic fibers in the environment. *Sci. Total Environ.* 2020;737:140279.
4. Farkas, K., Hillary, L.S., Malhan, S.K., McDonald, J.E., Jones, D.L., 2020. Wastewater and public health: the potential of wastewater surveillance for monitoring COVID-19. *Environ. Sci. Health* 17, 14–20. doi:10.1016/j.coesh.2020.06.001.
5. Foladori, P., Cutrupi, F., Segata, N., Manara, S., Pinto, F., Malpei, F., Bruni, L., La Rosa, G., 2020. SARS-CoV-2 from faeces to wastewater treatment: what do we know? A review. *Sci. Total Environ.* 743, 140444. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140444.
6. Haramoto, E., Malla, B., Thakali, O., Kitajima, M., 2020. First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. *Sci. Total Environ.* 1, 140405. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140405, 737.
7. Hart, O., Halden, R.U., 2020. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: feasibility, economy, opportunities and challenges. *Sci. Total Environ.* 15, 138875. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.138875, 730.
8. Hugenholtz, P., Thomas, K.V., Mueller, J.F., 2020a. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci. Total Environ.* 1, 138764. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.138764, 728.
9. Islam S.M.D., Bhuiyan M.A.H. Impact scenarios of shrimp farming in coastal region of Bangladesh: an approach of an ecological model for sustainable management. *Aquacult. Int.* 2016;24(4):1163–1190.
10. Kitajima, M., Ahmed, W., Bibby, K., Carducci, A., Gerba, C.P., Hamilton, K.A., Haramoto, E., Rose, J.B., 2020. SARS-CoV-2 in wastewater: state of the knowledge and research needs. *Review. Sci. Total Environ.* 739, 139076. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139076.
11. Kumar, M., Patel, A.K., Shah, A.V., Raval, J., Rajpara, N., Joshi, M., Joshi, C.G., 2020. First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARS-CoV-2. *Sci. Total Environ.* 28 (746), 141326. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141326.
12. La Rosa, G., Iaconelli, M., Mancini, P., Ferraro, G.B., Veneri, C., Bonadonna, L., Lucentini, L., Suffredino, E., 2020a. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Italy. *Sci. Total Environ.* 20 (736), 139652. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139652.
13. Lodder W, de Roda Husman AM. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020 Jun;5(6):533-534. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30087-X. Epub 2020 Apr 1. PMID: 32246939; PMCID: PMC7225404.
14. Mao, K, Zhang, K, Du, W, Ali, W, Feng, X, Zhang, H., 2020. The potential of wastewater based epidemiology as surveillance and early warning of infectious disease outbreaks. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health* 17, 1–7. doi:10.1016/j.coesh.2020.04.006.

15. Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., Brouwer, A., 2020. Presence of SARS-Coronavirus2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ. Sci. Technol.* 7 (7), 511–516. doi:10.1021/acs.estlett.0c00357.
16. Randazzo, W., Truchado, P., Cuervas-Ferrando, E., Simon, P., Allende, A., Sanchez, G., 2020. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Res.* 181, 115942. doi:10.1016/j.watres.2020.115942.
17. Saadat S., Rawtani D., Mustansar C. Hussain environmental perspective of COVID-19. *Sci. Total Environ.* 2020;728:138870.
18. Singh N., Tang Y., Ogunseitan O.A. Environmentally sustainable management of used personal protective equipment. *Environ. Sci. Technol.* 2020.
19. Somani M., Srivastava A.N., Gummadivalli S.K., Sharma A. Indirect implications of COVID-19 towards sustainable environment: an investigation in Indian context. *Biores. Technol. Rep.* 2020;11:100491.
20. WHO, 2020. WHO Director-General's statement on IHR Emergency Committee on Novel Coronavirus (2019-nCoV) [[https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihc-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihc-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov))]; dostęp:07.02.2020].
21. Wurtzer, S., Marechal, V., Mouchel, J.-M., Moulin, L. <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>
22. Van-Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., Holbrook M.G., Gamble A., Williamson B.N., Lloyd-Smith J.O. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(16):1564–1567.
23. Zambrano-Monserrate M.A., Ruanob M.A., Sanchez-Alcalde L. Indirect effects of COVID-19 on the environment. *Sci. Total Environ.* 2020;728:138813.

Opracowanie:

Gdańsk, maj 2021