

COVID-19 Kanalizasyon Sürveyansı: SARS-CoV-2'nin Atıksudan Geri Kazanım Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

COVID-19 Sewage Surveillance: Evaluation of Recovery Methods of SARS-CoV-2 from Wastewater

Nursel Kıratlı Yılmazçoban 

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Sakarya Meslek Yüksekokulu, Çevre Koruma ve Kontrol Programı, Sakarya, Türkiye

Atıf/Cite as: Yılmazçoban NK. COVID-19 kanalizasyon sürveyansı: SARS-CoV-2'nin atıksudan geri kazanım yöntemlerinin değerlendirilmesi, Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(4):309-25.

öz

Atık Su Bazlı Epidemiyoloji (ABE) toplum sağlığı ile ilgili birçok veri içeren önemli bilgi havuzu niteliği taşıyan başarılı bir çevresel sürveysans aracıdır. Dünya, SARS-CoV-2'nin benzeri görülmemiş küresel yayılımı, insan sağlığı ve ekosistem servisleri üzerinde olumsuz sonuçlarının üstesinden gelmeye çalışmaktadır. Bu derlemede, atık suda SARS-CoV-2'nin saptanmasında karşılaşılan zorluklar, virüs konsantrasyonu ve ölçümü için kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması sunulmuştur. SARS-CoV-2 için uyarlanmış bir ABE çerçevesi erken uyarı sistemi için önemli bir adımdır. Virüs yayılımını atık su sürveyansı ile takip etmek klinik test sınırlamalarını azaltacaktır. Belirti göstermeyen olgularda virüsün uzun süreli inkübasyon süresine sahip olması, bulaşmaya devam etmesi virüs kontrolünün etkin yönetimi için hesaba katılmalıdır.

Optimize edilmiş tanı protokollerinin kullanılması, dezenfeksiyon stratejilerinin geliştirilmesi, atık suyun yeniden kullanımıyla ilişkili muhtemel sorunların bilimsel kanıtlarının artması, gelecekteki viral hastalık salgınlarının tespitini ve kontrol altına alınmasını iyileştirecektir.

Anahtar kelimeler: SARS-CoV-2, atık su bazlı epidemiyoloji, halk sağlığı

ABSTRACT

Wastewater Based Epidemiology (WBE) is a successful environmental surveillance tool, which serves as a valuable information pool containing enormous data on public health. Efforts are being made globally to overcome the unprecedented worldwide spread of SARS-CoV-2 and its negative consequences on human health and the ecosystem. In this review, we present the difficulties encountered in detecting SARS-CoV-2 in wastewater and the comparison of methods used for virus concentration and measurement.

A WBE framework adapted for SARS-CoV-2 is a key step towards the development of an early warning system. Monitoring virus spread through wastewater surveillance will reduce limitations of clinical tests. For effective management of virus control in asymptomatic cases, it should be considered that the virus has a long incubation period and continues to be transmitted during that period.

Using optimized diagnostic protocols, developing disinfection strategies, and obtaining further scientific evidence on potential problems associated with waste water reuse will help improve the detection and control of future viral disease outbreaks.

Keywords: SARS-CoV-2, wastewater based epidemiology, public health

Alındığı tarih / Received:
12.03.2021 / 12.March.2021

Kabul tarihi / Accepted:
28.07.2021 / 28.July.2021

Erken çevrimiçi / First Published:
23.09.2021 / 23.September.2021

ORCID Kayıtları

N.K. Yılmazçoban 0000-0002-1609-2945

✉ nkiratli@subu.edu.tr

GİRİŞ

COVID-19 pandemisinin etiyolojik ajanı; SARS-CoV-2'nin yayılmasını önlemek ve biyolojik tehlikesini belirlemek, önde gelen zorluklar arasındadır. Belirti göstermeyen olgularda virüsün uzun süreli inkübasyon

süresine sahip olması, bulaşmaya devam etmesi virüsün hızlı bir şekilde yayılmasına yol açarak kontrol altına alınmasını engellemektedir. Bireylerin tıbbi taramasının yapıldığı bölgelerde SARS-CoV-2 yayılmasına ilişkin tahminler, bazı sorunlar nedeniyle büyük ölçüde eksik yapılabilmektedir. Düşük ve orta

gelirli ülkelerde yeterince test yapma olanağı olmadığı için eksik raporlama söz konusudur^(1,2). İzlanda gibi refah düzeyi yüksek ve nüfusu az olan ülkelerde ise her bireyin test edilmesi olası olmakla birlikte⁽³⁾ küresel boyutta düşünüldüğünde bu uygulamanın çoğu ülke için pratik olmadığı, yavaş ve maliyetli olduğu görülmektedir⁽⁴⁾.

Toplum sağlığı ile ilişkili anlık verilerin toplanabileceği kanalizasyon sistemleri, virüs epidemiyolojisi hakkında veri toplamak için uygun belirteçler seçildiği taktirde avantaj oluşturmaktadır. Kanalizasyon sisteminin biyolojik, kimyasal takibine dayanan Atık Su Bazlı Epidemiyoloji (ABE), dünya genelindeki topluluklarda poliovirüsler, norovirüsler ve hepatit A gibi patojenik virüslerin ortaya çıkışı ve epidemiyolojisi hakkında bilgi edinmek için kullanılmıştır⁽⁵⁻⁷⁾. Atık sularında SARS-CoV-2'nin izlenmesi ilk önerildiğinde, hâkim bilimsel görüş, virüsün yeterince yüksek oranlarda atık suda bulunmayabileceğini hem virüsün kendisinin hem de tek zincirli RNA (ssRNA)'nın atık suda belirlenmesinin çok değişken olabileceğine dayanmakta idi. İnsan dışısında koronavirüs saptanması ile ilişkili güncel raporlar^(8,9), Avustralya⁽¹⁰⁾, İspanya⁽¹¹⁾, İtalya⁽¹²⁾, Hollanda⁽¹³⁾ ve Japonya⁽¹⁴⁾ da dâhil olmak üzere bir dizi ülkeden kentsel atık suda SARS-CoV-2'nin ssRNA'sı belirlenmesine ilişkin yayınlar, bu endişeleri kısmen ortadan kaldırmıştır. Devam eden pandemi, ABE'nin toplumlarda bulaşıcı hastalık bulaşmasını tespit etmek ve yönetmek için kullanılabilirliği hipotezini sahada test etmek için anlamlı bir fırsat sağlamaktadır⁽¹⁵⁾. Dünya çapındaki birçok araştırma grubu, bu amaçla SARS-CoV-2 RNA'sını atık suda izlemek için harekete geçmiştir⁽¹⁵⁾. Atık suda SARS-CoV-2'nin izlenmesinde optimize edilen protokollerin kullanılması istenen yeterlilikte değildir ve çeşitli laboratuvarlarda tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek gibi halk sağlığı yanıtı olabilecek bilgilerin hassasiyeti hâlâ belirsizdir.

Bu derlemede, atık sudaki SARS-CoV-2 tanımlanmasında kullanılan metotlar (örnekleme, konsantrasyon vb. gibi) tartışılmıştır. Genel olarak atık suda SARS-CoV-2 varlığı için gelişmiş izleme aracına gereksinim olduğu vurgulanmaktadır. Optimize edilmiş tanı protokollerinin kullanılması, dezenfeksiyon stratejilerinin

geliştirilmesi, atık suyun yeniden kullanımıyla ilişkili olası sorunların bilimsel kanıtlarının artması, gelecekteki viral hastalık salgınlarının tespitini ve kontrol altına alınmasını iyileştireceği beklenmektedir.

Atık Su Bazlı Epidemiyoloji (ABE) ve Atık Su Matrisi

Toplum sağlığı ve su sistemleri arasındaki bağlantı eskilere dayanmaktadır. On dokuzuncu yüzyılda insanların büyük çoğunluğu, hastalıkların kötü hava-veya miasma- ile topraktan çıkan çürümüş maddelerden yayıldığına inanıyorlardı. Ancak, 1854'te John Snow, Londra'da kolera salgınının nedenini kanalizasyonla kontamine olmuş özel bir su pompasından kaynaklandığını saptayarak epidemiyolojinin doğmasına neden olmuştur⁽¹⁶⁾. Miasma teorisini çürüterek mikrop teorisinin doğmasına neden olan İngiliz hekim, sıhhi mühendislik reformlarına önemli etkisi olmuştur.

Atık sular, uyuşturucu ve çeşitli kimyasal atıkların bulunduğu, DNA, proteinler, lipitler ya da metabolizma atıkları gibi insan vücudu için sağlık ve hastalık belirteçleri olabilecek molekülleri içermektedir. Bu nedenle atık suların içeriği, toplum sağlığı ile ilgili birçok veri içeren önemli bilgi havuzu olma niteliği taşımaktadır. Atık Su Bazlı Epidemiyoloji yaklaşımı, bir arıtma tesisinden elde edilecek verilerle nüfus düzeyinde çalışmaların yapılabilmesini olası kılmaktadır. Yasa dışı uyuşturucuları takip etmekle başlayan atık su izleme çalışmaları, 1990'lı yıllara kadar dayanmaktadır⁽¹⁷⁾. Sonraki yıllarda Avrupa'daki kanalizasyon sistemi SCORE ağı ile düzenli takip edilmeye başlanmıştır⁽¹⁸⁾. Atık sularında SARS-CoV-2'nin varlığını araştıran gruplar, hastalık salgınlarının takip etmek için devam etmekte olan çalışmaların potansiyelini en üst düzeye çıkarmak hedefiyle⁽¹⁵⁾ COVID-19 WBE Collaborative⁽¹⁹⁾ iş birliğini kurmuşlardır. Bu küresel iş birliğine Avrupa SCORE ağı ve Küresel Su Patojeni Projesi de dâhildir⁽¹⁵⁾. Başka bir ABE yaklaşım örneğini Arizona Eyalet Üniversitesi'nde Dr. Halden ve meslektaşları daha büyük ölçekte tasarlayıp uygulamaya geçirmiştir. Dünya çapında 300'den fazla AAT örnekleri için bir bilgi deposu olan İnsan Sağlığı Gözlemevi'ni kurmuşlardır^(5,20). Dr. Halden, yaptıkları çalışmaları belirtmek için ABE kavramını yetersiz bularak daha

kapsamlı bir tanım -Kentsel Metabolizma Metrolojisi-kullanmayı tercih etmektedir⁽⁵⁾. Kentsel Metabolizma Metrolojisini (KMM), kentsel insan popülasyonlarının sağlığı, sürdürülebilirliği ve dayanıklılığı hakkında bilgi verebilen yeni bir bilimsel disiplin olarak tanımlamaktadır.

Atık Sudaki SARS-CoV-2 Kaynakları

SARS-CoV-2'nin ana bulaşma yolları, enfektif damlacıkların solunumu ve doğrudan temas olarak bilinmesine rağmen^(21,22) diğer önemli bir bulaşma yolu gastrointestinal (GI) sistemde SARS-CoV-2 replikasyonu sonucunda dışkı ile dağıtılmasıdır⁽²³⁻²⁶⁾. Virüs, birçok sporadik olgu ile sonuçlanan, hatta ölümcül bile olabilen fekal-oral yolla salgınlara neden olmaktadır^(23,27,28). Su kaynaklı çeşitli virüslerin bulaşma yeteneği göz ardı edilemeyecek endişe kaynağı olmaya devam etmektedir⁽²⁹⁾. Enterik virüsler GI kanalını enfekte ederek çoğalır ve fekal yolla kanalizasyona, septik tanklara, su kaynaklarına deşarjları ile hava, su ve gıdaları kontamine edebilir⁽³⁰⁾. Çeşitli yollarla insanları enfekte eden virüsler, hastalık belirtisi göstermeden de yayılabilirler. Virüslerin neden olduğu hastalıkların şiddeti, virüsün yaşamda kalmasına ve replikasyon kapasitesine bağlıdır^(31,32). Genel olarak enterik virüsler, çok düşük dozda (<20 partikül) bulaşıcıdır ve hastalığa neden olurlar⁽³³⁾. Bazı raporlarda, enfekte insanlarda dışkıda yüksek ve bazen idrarlarda daha düşük konsantrasyonlarda virüs titreleri belirlenmiştir^(28,34).

Atık su sisteminde saptanan SARS-CoV-2 viral ssRNA fragmentleri, virüsün insan dışkısı ve idrar yoluyla kanalizasyon sistemine girdiğini göstermektedir^(11,35,36). İshal ve kusma dâhil olmak üzere gastrointestinal hastalık belirtilerinin sıklığı, doğrulanmış olgularda %2 ile %80'i arasında değişmektedir⁽³⁷⁻³⁹⁾. Neredeyse balgamdaki miktara yaklaşan SARS-CoV-2 ssRNA, dışkı örneklerinde %67 oranında pozitif test edilmiştir^(8,38). Diğer belirtilerin olduğu fakat GI bulguların olmadığı olgularda, ayrıca belirti göstermeyen olgularda ve belirtilerin kesilmesinden sonraki dört haftaya kadar dışkıda SARS-CoV-2 ssRNA varlığı gözlenmiştir^(8, 38-42). İlginç bir şekilde, solunum düzeldikten ve solunum örnekleri negatif bulunduktan

sonra da dışkıda SARS-CoV-2 ssRNA genellikle belirlenmiştir^(8,34). Yalnızca birkaç çalışma enfektif SARS-CoV-2'yi dışkı ve idrar örneklerinden^(26,36,43) izole etmeyi başarmış olsa da birçok çalışmada dışkıda ve atık suda SARS-CoV-2 ssRNA saptanmıştır^(11,13,44-46). Bugüne kadar, dışkıdaki SARS-CoV-2 ssRNA'sının yutulmuş balgamdan mı yoksa GI içindeki aktif replikasyondan mı kaynaklandığı belirsizdir. Virüslerin GI içindeki aktif replikasyonu enfektif virionların atık su yoluyla yayılmasını önemli ölçüde etkileyecektir. Yapılan modelleme çalışmalarında atık suların önemli sayıda enfektif virion içerdiği varsayılmaktadır⁽⁹⁾. Enfektif SARS-CoV-2'nin dışkı ve atık su örneklerinden başarısız izolasyonu, enfektif virionların yokluğundan çok sağlam zarflı virionları izole etmenin zorluğundan kaynaklanıyor olabilir. Yüksek viral konsantrasyonlara sahip olma potansiyeli olan vücut sıvıları (tükürük ve balgam) içeren gri suyun ise önemli bir SARS-CoV-2 iletim aracı olması beklenmemektedir^(8,43). Gri su genellikle SARS-CoV-2'nin duyarlı olduğu deterjanlar, sabunlar ve çeşitli dezenfektanları içerdiğinden, virüs konsantrasyonunun düşük olması beklenmektedir.

SARS-CoV-2 Saptanması ve Bulaşıcılığı

Atık suda virüs belirlenmesi ve izlenmesi kalitatif, genomik kantifikasyonun yanı sıra kültüre-edilme metodu olan *in vitro* plak oluşum ünitesi (PFU) sayımı olarak sıralanabilir. Moleküler yaklaşımların hedefi, su örneğinde SARS-CoV-2 ssRNA varlığının tahmini ve ssRNA kopyasının (veya fragmanı) bağlı bolluğu hakkında bilgi vermek olabilir, ancak bu yöntemler ile viral enfeksiyon ölçülemez⁽⁴⁷⁾. PFU, enfektif virionların nicel bir tahminini sağlayabilir, ancak virüsü *in vitro* üretmek için uygun bir konakçı gerektirdiğinden bu yöntem yavaş ve zordur^(47,48). Genellikle atık su örneklerinde bulunan toksinlerin sitotoksik etkisi, viral saptanması için plak oluşum ünitesi testinin duyarlılığını daha da sınırlandırılabileceği unutulmamalıdır⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾. Ek olarak, enfektif virionları izole etmek için ssRNA belirlenmesine kıyasla virüs konsantrasyonlarının daha da yüksek olması gerekir (>10⁶ kopya mL⁻¹). Bu nedenle, hastanelerin atık sularının SARS-CoV ssRNA için pozitif olarak test edilmesi, ancak enfektif virionlar için test edilmemesi şaşır-

tıcı değildir⁽⁸⁾. Ancak, dezenfektanların ve çeşitli sürfaktanların yoğun kullanımı nedeniyle hastane atık suyundaki enfektif virion konsantrasyonunun saptama limitinin altında olması da olasıdır.

Kullanılan yöntemlerden bağımsız olarak, SARS-CoV'lerin atık sudaki saptanması ve sayımı, insan dışkısı üzerindeki doğrudan testlere göre seyreltme sonrası düşük bağıl bollukları (10^1 ila 10^6 kopya L^{-1}) nedeniyle oldukça zordur^(11,41,44,52). Bu nedenle, numuneyi yüksek geri kazanım oranlarıyla konsantre etmek gereklidir⁽⁵¹⁾. Yakın zamanda yayınlanmış umut verici konsantrasyon yöntemleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Bozulmamış virionlar, kırık virionları uzaklaştırmak için enzim işleminden sonra karşılık gelen reseptörlerle kaplanmış hücresiz substrat üzerinde konsantre edilebilir⁽⁷⁷⁾. Bağlı virionlar, daha sonra RT-qPCR ile analiz edilebilir⁽⁷⁷⁾. Son zamanlarda, bu yöntemin atık suda özel ekstraksiyon yöntemlerinden sonra SARS-CoV-2'yi saptadığını ve ölçtüğünü belirtmektedir^(13,41,53). Aktif çamurdan yapılan bir transkriptom (ssRNA) analizi, diğer moleküler tekniklerde keşfedilemeyen çok çeşitli kültüre edilmemiş bakteri virüslerini ortaya çıkarmıştır⁽⁷⁸⁾. Düşük viral konsantrasyonlar çeşitli konsantrasyon yaklaşımları gerektirecek olsa da uygun teknikler ile atık sudaki SARS-CoV-2 gibi tek sarmallı ssRNA virüslerinin saptanması için yeni bir yaklaşım sağlayabilir.

Hem bağıl bolluk hem de viral enfeksiyon, hastalığın bulaşması için kritik faktörlerdir. Bununla birlikte, ekstraksiyon protokollerinde, kapsidi çevreleyen lipit tabakalı çift zar kolayca bozulduğundan, bozulmamış virüsler için genellikle düşük geri kazanım oranlarına yol açar^(47,79). Bu nedenle, atık sudaki enfektivitesini belirlemek için başka yaklaşımlar geliştirilmelidir. Şu anda, SARS-CoV-2'nin (yani bir enfeksiyona neden olan viral partikül sayısı) insanlar için minimum bulaşıcı dozu (MID) bilinmemektedir⁽⁶⁾. Yine de hastalığın hızlı yayılması, MID'nin düşük olduğunu ve diğer zarflı virüslere benzer olduğunu göstermektedir⁽⁸⁰⁻⁸²⁾.

Su ve Atık Su Matrislerinde SARS-CoV-2 Stabilitesi
Virüslerin yaşamda kalma süresi genellikle üsteldir ve yarılanma ömrü (iki kat azalmak için gereken süre)

olarak, log giderimi veya %90 inaktivasyona (T90) ulaşmak için gereken süre olarak rapor edilir. Çeşitli çevresel koşullar altında, SARS-CoV-2 virionları ve diğer zarflı virüslerin birkaç gün boyunca enfektivitesi devam edebilmektedir. Su ve atık sudaki SARS-CoV bulaşıcılığını etkilediği bilinen faktörler arasında sıcaklık, organik içerik ve çözeltinin pH'ıdır^(51,83,84). Sıcaklık, genel olarak virionların ve özel olarak SARS-CoV-2'nin yaşamda kalması için önemli bir değişkendir. Daha düşük sıcaklıklarda SARS-CoV'lerin bulaşıcılığının daha uzun süre tutulduğu gözlemlenmiştir (Örneğin, atık suda 4°C'de 14 gün ve 25°C'de iki gün)⁽⁵¹⁾. Hindistan'da atık suda 45°C gibi yüksek ortam sıcaklıklarında viral genomun varlığı saptanmıştır⁽⁶⁴⁾. Bu, soğuk mevsimlerde ve ılıman iklim bölgelerinde, SARS-CoV-2'nin çevresel stabilitesinin artabileceği anlamına gelir. 56°C'nin üzerindeki sıcaklıklar, büyük olasılıkla proteinlerin ve çift katmanlı lipit tabakanın denatürasyonu nedeniyle 30 dakika SARS-CoV-2'yi güvenilir bir şekilde inaktive eder⁽⁸³⁾. Su ve atık su numunelerinde organik madde konsantrasyonunun artışı CoV'lerin yaşamda kalma süresini azalttığı bildirilmiştir. Bu durumun nedeni, hücre dışı enzimatik aktivite yoluyla virüsleri inaktive edebilen antagonist bakterilerin varlığından kaynaklanıyor olabilir⁽⁸⁵⁾. Ayrıca AAT'lerinde organik maddeler, SARS-CoV virionlarının zarfına spesifik olmayan bir şekilde adsorbe olarak onları oksidatif hasar, klorlama, ultraviyole (UV) radyasyon, protozoan veya metazoan avlanmasından koruyabilir^(79,85).

Atık Suda SARS-CoV-2 tanımlanması

Atık sudan SARS-CoV-2'nin konsantrasyonu, virüsün saptanma verimliliği⁽⁵²⁾, analizlerin maliyeti, ölçeklenebilirlik ve tedarik zinciri virüs izleme çalışmalarındaki en büyük zorlukların başında yer almaktadır. AAT'lerden numune alma stratejisi, analiz sonuçlarını etkileyen en kritik adımlardan biridir Şekil 1.

Örneklerin temsili olabilmesi için anlık örnek yerine 24 saat kompozit numune alınması tercih edilmelidir⁽⁸⁷⁾. Örneklem stratejisinde problem olabilecek konulardan biri biyo-belirteç olarak seçilen ve takip edilen kirleticilerin yarı ömürleridir. Biyo-belirteçlerin yarı ömürleri sıcaklığa bağlı olarak değiş-

Tablo 1. Atık suda SARS-CoV-2'nin konsantrasyon ve tanımlama yöntemleri^(10-14,28,41,44,46,53-76).

Ülke	Çevresel matris hacmi (ml)	Numune hacmi (ml)	Debris ve askıda katılardan virüsün saflaştırılması	Konsantrasyon & Ekstraksiyon metodu	Tanımlama metodu /CPE	Dizileme ile Doğrulama/Sürrogat, Pozitif Kontrol	Tanımlama sıklığı	Maksimum konsantrasyon (genom kopya/L)
ABD/ Boston, MA ⁴¹	HA	80	Filtrasyon- 0.22 µm PES membran	Presipitasyon: PEG 8000, NaCl & TRIzol™-kloroform RNA ekstraksiyonu, Santrifüj	RT-qPCR: CDC N1, N2, N3 /Hayır	Evet/PMMoV	10/10 (%100) N1: 4/6, N2: 1/6 N3: 4/6	>2 × 10 ⁵
ABD/ Bozeman, MT ⁴⁶	HA	500	Ardışık filtrasyon- 20 µm, 5 µm, 0.45 µm	Ultrafiltrasyon: Corning® Spin-X UF & RNeasy Mini Kit ile RNA ekstraksiyonu	RT-qPCR: CDC N1, N2 /Hayır	Evet/PTC	13/17 (%100) N1: 13/17, N2: 13/17	>3 × 10 ⁴
ABD/ New Haven, CT ⁵³	BÇ	2.5	Yok	RNeasy PowerSoil Total RNA Kit ile doğrudan RNA ekstraksiyonu	RT-qPCR: CDC N1, N2 /Hayır	Hayır/insan RP geni	44/44 (%100)	4.6 × 10 ⁸
ABD/ Hampton, VA ⁵⁴	HA	125	Yok	Concentrating Pipette Select™- Elektronegatif filtrasyon, NucliSENS easyMag ile toplam nükleik asit ekstraksiyonu	RT-qPCR: N1, N2, N3 /Hayır	Hayır/BCoV, BRSV	98/198 (%49)	~ 10 ⁵
ABD, Syracuse, NY ⁵⁵	HA, KS	20 20	Yok	Multiplikasyon Ultrasantrifüj: sükröz yastığı (TNE de %50 sükröz), Sorvall WX Ultra, AllPrep®PowerViral® DNA/RNA Kiti ve One-Step Multiplex RT-qPCR ile toplam nükleik asit ekstraksiyonu Ultrafiltrasyon: Centricon® Plus-70 ve/veya Elektronegatif membran 0.45µm-doğrudan RNA ekstraksiyonu ^a	RT-qPCR: IP2, IP4/Hayır	Hayır/crAssphage	18/22 (%82)	1.7 × 10 ⁵
ABD/ Louisiana ⁵⁶	HA, IAC, ÇA,	250 250 250	Santrifüj	Ultrafiltrasyon: Centricon® Plus-70 ve/veya Elektronegatif membran 0.45µm-doğrudan RNA ekstraksiyonu ^a	RT-qPCR: CDC N1, N2/Hayır	Hayır/Pseudomonas bakteriofaji Φ6/2.0×10 ⁵ kopya/µL	HA: 2/15 (%13) ÇA: Negatif Sonuç	7.5 × 10 ³
Almanya ⁵⁷	HA, ÇA	Belirtilmemiş	Santrifüj	Ultrafiltrasyon: Amicon® Ultra-15, NucleoSpin RNA Virus kit	RT-qPCR: E, M, N, RdRp/Caco-2	Evet/SARS-CoV-FMM1/HCoV-229E	HA: 9/9 (100%) AÇ: 4/4 (100%)	HA: 2.0 × 10 ⁴ AÇ: 3.7 × 10 ⁴
Avustralya/ Brisbane Queensland ¹⁰	HA	100-200	Yok	Elektronegatif membran 0.45µm -doğrudan RNA ekstraksiyonu; Ultrafiltrasyon: Centricon® Plus-70 & RNeasy PowerWater Kit ve RNeasy PowerMicrobiome Kit, RNeasy PowerWater Kit	RT-qPCR: N_Sarbeco, NIID_2019-nCoV_N /Hayır	Evet/gBlocks gen, murine hepatitis virus (MHV)	2/9 (%22)	1.2 × 10 ³

Tablo 1. (devam).

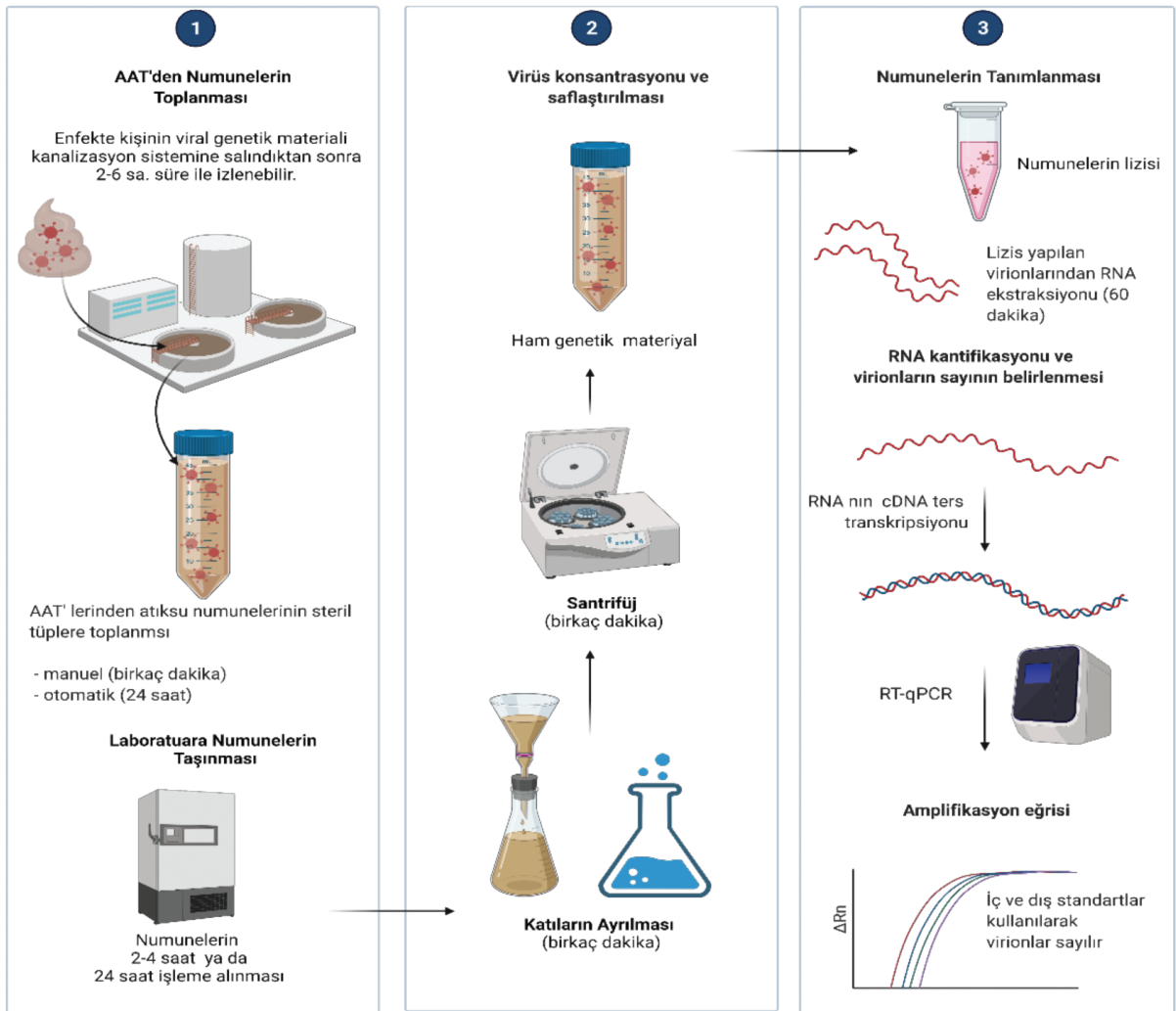
Brezilya/ Florianópolis Santa Catalina ⁵⁸	HA	25	Santrifüj, ultrasantrifüj, Lizin tampon metodu, Presipitasyon: PEG	Filtrasyon ve Santrifüj & QIAamp® Viral RNA Mini kit	RT-qPCR: N1, E_Sarbeco, RdRp/ Hayır	Hayır/MNV-1	4/6 (66%)	5 × 10 ⁶
Brezilya/ Niterói Rio de Janeiro ⁵⁹	HA	Belirtilmemiş	Yok	Ultrasantrifüj, & QIAamp® Viral RNA Mini kit	RT-qPCR: N1, N2, N3/ Hayır	Hayır	5/12 (41.6%)	Rapor edilmemiş
Çek Cumhuriyeti ⁶⁰	HA	500	Yok	Sığır özütlü çözeltisi ve santrifüj kullanarak doğrudan flokülasyon, NucliSENS® miniMAG®	RT-qPCR: N, S/Hayır	Hayır/TGEV	13/112 (11.6%)	Rapor edilmemiş
Ekvador Cumhuriyeti/ Quito ⁶¹	Kentsel Akarsu	Belirtilmemiş	Yok	Yağsız süt flokülasyonu, & AccuPrep® Universal RNA Extraction Kit	RT-qPCR: CDC N1, N2/Hayır	Hayır/İnsan Adenovirüsü	3/3 (%100)	~10 ⁴
Fransa/Paris ⁴⁴	HA	Belirtilmemiş	Yok	Ultrasantrifüj & PowerFecal Pro kit, OneStep PCR inhibitor removal kit	RT-qPCR: E_Sarbeco, RdRp/Hayır	Hayır	Rapor edilmemiş (%100)	~10 ⁶
Fransa/ Montpellier ⁶²	HA	Belirtilmemiş	Yok	Filtrat ultrasantrifüjü	RT-qPCR: CDC N1, N3, RLP27	Rapor edilmemiş	Rapor edilmemiş	Rapor edilmemiş
Hindistan/ Ahmedabad, Gujara ⁶³	HA, ÇA	50	Santrifüj, Filtrasyon: 0.22 µM	Filtratın PEG 9000 + NaCl presipi- tasyonu, Santrifüj & NucleoSpin® RNA Virus kit	RT-qPCR: ORF1ab, N, S/Hayır	Hayır/MS2 faji	HA: 2/2 (100%) ÇA: 2/2 (Negatif Sonuç)	HA: 3.5 × 10 ² ÇA: Negatif sonuç
Hindistan ⁶⁴	HA, AÇ	Belirtilmemiş	Filtrasyon: 0.45 µM	PEG/dextran metodu ile ayırma ve ultrasantrifüj & Allplex™ 2019-nCoV Assay kit	RT-qPCR: ORF1ab, RdRp, N, S, E_Sarbeco/Hayır	Hayır/İÇ, MS2	HA: 5/8 (62.5%) AÇ: 0/5	Rapor edilmemiş
Hollanda/ Amsterdam, Lahey, Utrecht, Apeldoorn, Amersfoort, Schiphol, Tilburg ⁶⁵	HA	250	Santrifüj	Süpermatant Ultrafiltrasyonu: Centricon® Plus-70 & RNeasy PowerMicrobiome Kit, Biomerieux Nuclisens kit	qPCR: CDC N1, N2, N3, E_Sarbeco/Hayır	Hayır/İÇ, MS2	19/24 (79%) N1: 18/24, N2: 18/24, N3: 19/24 E: 18/24	2.2 × 10 ⁵
İngiltere ⁶⁵	HA	120-240	Filtrasyon-Santrifüj	500 mL Nalgene Rapid-flow™ 0.45µM filtre, Centriprep santrifüj filtre, Step One Plus real-time PCR system	RT-qPCR: RdRp, E_Sarbeco/Hayır	Evet	3/5 (60%)	3.1–15.8 × 10 ³

Tablo 1. (devam).

İsrail ⁶⁶	HA, AÇ	250-1000	Santrifüj	Süpernatant presipitasyonu: PEG veya Alüminyum hidroksit adsorpsiyonu, santrifüj, 0.22µM filtre, Ultra-15 santrifüj tüpleri & RNeasy mini kit- QIAGEN ve EasyMAG, Step One Plus real-time PCR system	RT-qPCR: E_Sarbeco/Hayır	Hayır/BGI kit	10/26 (42%)	Rapor edilmemiş
İspanya/ Valensia ⁶⁷	HA, ÇA, Üçüncül Aritma	200	Adsorpsiyon - presipitasyon: Al(OH) ₃	NucleoSpin RNA virus kit, Plant RNA Isolation Aid & UltraSense One-Step Kit, One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit	RT-qPCR: CDC N1, N2, N3/Hayır	Hayır/ PEDV/MgV (5 log10PCR units, PCRU)	HA: 35/42 (83%) ÇA: 2/18 (%11) Üçüncül Aritma: 0/12	3.4 x 10 ⁵
İspanya/ Valensia ¹¹	HA, ÇA	200	Adsorpsiyon- presipitasyon: Al(OH) ₃	Santrifüj & NucleoSpin RNA virus Kit, UltraSense One-Step Kit	RT-qPCR: CDC N1, N2/Hayır	Hayır/MgV (5 log10PCR units, PCRU)	HA: 13/15 (87%)	1.0 x 10 ⁵
İspanya ⁶⁸	HA, AÇ, ÇA	100	Santrifüj	Ultrafiltrasyon: Amicon, Presipitasyon: PEG, Santrifüj, PES membran: 0.45µM PEG 8000 ve NaCl, Santrifüj & STARMag 96 x 4 Universal Cartridge Kit ile nükleik asit ekstraksiyonu, One Step multiplex RT-qPCR Allplex system™	RT-qPCR: RdRp, N, E_Sarbeco/Hayır	Hayır/ik: CFX96 system™, MS2	HA: 8/8 (%100) AÇ: 11/32 (%34) ÇA: 0/8	HA: 1.50 x 10 ⁴ AÇ: 4.00 x 10 ⁴
İspanya/ Barselona ⁶⁹	HA	800	Presipitasyon: PEG 6000	NucliSENS® miniMAG® extraction system ile nükleik asit ekstraksiyonu, UltraSense(tm) One-Step Quantitative RT-PCR System	RT-qPCR: RdRp, IP2, IP4, E_Sarbeco, N1, N2/Hayır	Hayır/Twist SARS-CoV-2 RNA Control 2	1/19 (11%)	8.3 x 10 ²
İtalya/ Milan ve Roma ¹²	HA	250	Santrifüj, Presipitasyon: PEG/ dextran WHO metodu, Ayrırma hunisi	NucliSENS miniMAG yarı otomatik ekstraksiyon sistemi, OneStep PCR Inhibitor Removal Kit	RT-qPCR: ORF1ab, RdRp, S/Hayır	Hayır	6/12 (50%)	4.1 x 10 ³
İtalya/Milano, Turin, Bolonya ²⁸	HA	250	Santrifüj, Presipitasyon: PEG/ dextran WHO metodu, Ayrırma hunisi	NucliSENS miniMAG yarı otomatik ekstraksiyon sistemi, OneStep PCR Inhibitor Removal Kit	RT-qPCR: ORF1ab, RdRp, E_Sarbeco/Hayır	Hayır/HCoV 229E	15/40 (37%)	5.6 x 10 ⁴
İtalya/Milano, Monza ⁷⁰	HA, ÇA, Nehir	1000	Cam Filtre: 0.7 µM Nitsoselüloz filtre- 0.22 µM (50 ml ön filtrat)	QIAMP Viral RNAmini kit	RT-qPCR: 2019-nCoV, ORF1ab, N, E_Sarbeco/ Hayır	Evet/ Evet/	HA: 3/4 (%75) ÇA: 0/2 Nehir: 2/2	Rapor Edilmemiş

Tablo 1. (devam).

Japonya/ Yamanshi Prefecture ¹⁴	HA: 200 AÇ: 5000 Nehir: 4000	Selüloz-ester filtre-0.8 µm, Santrifüj, Membran filtre-0.45 µm, CentriprepYM-50 Ultrafiltrasyonu	Elektronegatif membran-vorteks (EMV) metodu veya/ ve doğrudan adsorpsiyon ile RNA ekstraksiyon yöntemi (Selüloz-ester filtre- 0.8µm), QIAamp Viral RNA Mini Kit, RNeasy PowerWater Kit	RT-qPCR: N_Sarbeco, NIID_2019-nCoV_N, CDC-N1, N2, ORF1a, S, PMMoV RT-qPCR: ORF1ab, N/Hayır	Hayır/ PMMoV	HA: 0/5 AÇ: 1/5 (%20) Nehir: 0/3	HA: Tespit edilememiş AÇ: 2.4 x 10 ³ Nehir: Tespit edilememiş
Pakistan ⁷¹	HA	Vorteks, Santrifüj	Hero 32 ekstraksiyon sistemi	RT-qPCR: ORF1a, N/Hayır	Hayır	16/28	Rapor Edilmemiş
Pakistan ⁷²	HA	Santrifüj	PEG/dextran WHO metodu, Ayrırma hunisi, santrifüj/Spin star viral nükleik asit kit & qRT PCR for Novel Coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit QIAamp Viral RNA Mini kit,	RT-qPCR: ORF1a, N/Hayır	Hayır	21/78 (27%)	Rapor Edilmemiş
Şili ⁷³	HA, AÇ	Ultrasantrifüj	TaqMan 2019-nCoV Assay Kit	RT-qPCR: ORF1, N, S/Hayır	Hayır	HA: 4/4 (100%)	HA: 4.8 x 10 ³ AÇ: 1.6 x 10 ²
Türkiye/ İstanbul ⁷⁴	HA, KS	Ultrafiltrasyon: Amicon, Santrifüj, Ardışık filtrasyon (0.45 µm, 0.22 µm filtre)	Presipitasyon-flokülasyon: PEG 8000 + Dextran & The QIAamp cadör Pathogen Mini Kit	RT-qPCR: RdRP /Hayır	Hayır/IBV/300 µl/105	5/7 (%71)	HA: 1.80x10 ⁴ KS: 9.33x10 ⁴
Türkiye/ İstanbul ⁷⁵	ÇA	Santrifüj, Ardışık filtrasyon (0.45 µm, 0.22 µm filtre)	Presipitasyon-flokülasyon: PEG 800 + Dextran & Roche MagNA pure LC toplam nükleik asit izolasyon kiti	RT-qPCR: RdRP/Hayır	Hayır/IBV/300 µl/105	9/9 (%100)	AC: 4.02x10 ⁴ genom kopya/L
Türkiye/ Marmara, Ege, Anadolu, Akdeniz, Karadeniz, Doğu Anadolu Bölgeler ⁷⁶	HA, ÇA, BC, AAÇ	Santrifüj, Ardışık filtrasyon (0.45 µm, 0.22 µm filtre)	Presipitasyon-flokülasyona: PEG 800 + Dextran & Roche MagNA pure LC toplam nükleik asit izolasyon kiti	RT-qPCR: N1, N2/Evet	Hayır/IBV/300µl/ 105	HA-177 (%85), CA-167 (%87), BC: 35 (%91), AAÇ-122 (%87), CPE: 1/31 (%3.2)	8E+3-8E+6 virüs titre/L



Şekil 1. Kentsel atık sularda SARS-CoV-2 RNA varlığının saptanması⁽⁸⁶⁾.

mektedir. SARS-CoV-2'nin ortam koşullarında (20°C) yarı ömrü, 4.8 ve 7.2 saat arasında değiştiği tahmin edilmektedir⁽⁸⁸⁾. Geriye dönük hesaplama yapılırken kirleticilerin yarı ömrü dikkate alınmalıdır. Diğer kritik önemi olan konu da yeterli virüs geri kazanımı için numune hacminin az olmamasıdır. Düşük virüs yükü yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Örneklerin analiz öncesi saklama sıcaklığı da sonuçların güvenilirliğini etkileyebilir. SARS-CoV-2'nin genetik materyalinin RNAaz tarafından bozulmasına^(89,90) engel olmak için ham atık suyu depolamak yerine atık suyun konsantre edilerek -80°C'de depolamak tercih edilmelidir. Su örneklerinde virüslerin saptama sınırları iyileştirilmesi için konsantre edilmeleri gerekir. Su döngüsünde zarflı virüs tanımlamak için kanıtlanmış bir metot bulunmamaktadır. Var olan metotların çoğu

zarfsız enterik virüsler için optimize edilmiştir⁽⁹¹⁾. Virüs konsantrasyonunda, çeşitli pH aralıklarında eklenen kimyasallar ile ultrasantrifüjleme, ultrafiltrasyon, adsorpsiyon ve elüsyon (VIRADEL), koagülasyon, boyut dışlama ve flokülasyon gibi yöntemler genellikle tek başına veya kombinasyon hâlinde kullanılmasına odaklanılır^(70,92). Atık sudan SARS-CoV-2'nin geri kazanım verimliliği hakkında çok az şey bilinmektedir. Zarflı SARS-CoV-2'nin geri kazanım etkinliğinin zarfsız enterik virüslerden farklı olabileceği öne sürülmüştür^(6,47). Son çalışmalarda, ham atık sudan SARS-CoV-2 partiküllerini/genomlarını geri kazanmak için çeşitli virüs konsantrasyon yöntemleri kullanılarak⁽¹³⁾ orta hızda santrifüjleme (100kDa Centricon®Plus-70) yöntemleri denenmiştir. Ahmet ve ark.⁽⁵²⁾ elektronegatif membran, Centricon®Plus-70

santrifüj ve ultrafiltrasyon kullanılarak adsorpsiyon-ekstraksiyon yöntemini uyguladılar. Bununla birlikte, santrifüj filtrelerinin maliyeti ve bulunabilirliği, özellikle pandemi sırasında tedarik zincirinin aksaması olasılığı göz önüne alındığında, bazı laboratuvarlar için sınırlı olabilir. La Rosa ve ark.⁽²⁸⁾ 2003 WHO Poliovirüs Çevresel Sürveyans Kılavuzu'nda açıkladığı gibi iki aşamalı (PEG-dekstran) ayırma yöntemi kullandı ve İtalya'daki 12 atık su örneğinden altısının SARS-CoV-2 için pozitif test ettiğini bildirilmiştir. Atık sularda SARS-CoV-2 ssRNA'nın saptanması için alüminyum kaynaklı flokülasyon yöntemi ve ardından nükleik asit ekstraksiyonu kullanılmıştır⁽¹¹⁾. Ahmet ve ark.⁽⁵²⁾ ham atık su örneklerinde Murin Hepatit Virüsünü (MHV) ile yedi konsantrasyon yöntemi değerlendirerek ortalama MHV geri kazanımları rapor edilmiştir⁽⁵²⁾. Wu ve ark.⁽⁴¹⁾, çok az özel ekipman gerektiren belki de en ölçeklenebilir yöntemi önerilmiştir; 0.2 mikronluk filtrat PEG ile floküle edilerek saflaştırılmış RNA elde etmek Trizol™ ile ekstrakte edildi. Rapor edilen en basit prosedürler arasında, ekipmanın var olduğunu olduğu varsayılarak, küçük hacimlerde (11 mL) atık suyun bir saat boyunca ultrasantrifügasyonu ve ardından peletten nükleik asitlerin elde edilmesi yer almaktadır⁽⁴⁴⁾. Hücre kültürüne adapte edilmiş SARS-CoV-2 suşu veya çeşitli yöntemlerle konsantre edilen ham ve çıkış atık suyunda pozitif numuneler ile tanımlama sınırları oluşturulmalıdır. Bununla birlikte, SARS-CoV-2'yi analiz etmek için bir BSL3 laboratuvar tesisinin gereksinimi, bu deneyin ana sınırlamasını oluşturmaktadır.

Atık sudaki SARS-CoV-2 saptanması ABE amaçları için işlevsel olsa da insan sağlığı ile ilişkili su döngüsündeki viral partiküllerin enfektivitesi hâlâ şüphelidir ve fekal-oral geçiş potansiyeli doğrulanmayı gerektirmektedir. Bazı araştırmacılar, su örneklerinde çok sayıda ssRNA kopyasına rağmen, SARS-CoV-2'nin hücre kültürü çalışmalarındaki başarısızlık göz önüne alındığında, atık su ve nehirden enfeksiyon riskinin ihmal edilebilir olduğunu ileri sürmektedir⁽⁷⁰⁾.

Atık Su Arıtma Tesisleri

Atık su arıtma tesislerinde (ATT) yüksek konsantrasyonda ve çeşitlikte olan virionlar, çoklu-bariyer (fizik-

sel, biyolojik ve kimyasal proseslerle) zincirinden geçerek büyük ölçüde giderilebilmektedirler^(27,93). Doğadaki virüslerin mühendislik sistemleri ile giderilmeden yaşamda kalması, halk sağlığını etkileyecek önemli risklerin başında yer almaktadır. Bu nedenle, su arıtımı sırasında enterik virüslerin giderilmesi veya 4 log (%99.99) inaktive edilmesi gerekmektedir⁽⁹⁴⁾. AAT'lerde atık su ilk olarak virüslerin yalnızca sedimentasyon yoluyla uzaklaştırılmasının düşük olduğu birincil arıtmaya tabi tutulur. Dezenfeksiyondan önce sedimentasyon ve kum filtrasyonu virüsün giderilmesine önemlidir^(95,96). Koagülasyon ve ardından kum filtrasyonu, virüs giderme kapasitesini arttırmaktadır⁽⁹⁷⁾. Organik partiküllere virüslerin sorpsiyonu ve çöktürülerek uzaklaştırılması, ikincil (biyolojik) arıtma adımlarında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. SARS-CoV-2 için henüz belirli bir veri bulunmamasıyla birlikte, atık sudaki zarflı virüslerin⁽⁷⁹⁾ zarfsız virüslere göre kıyasla askıda katı maddelerdeki partiküllere adsorbe olarak giderilmesi daha olasıdır⁽⁴⁹⁾. Aktif çamur flokları ve katıların ayrılması virüslerin yok edilmesine büyük ölçüde katkıda bulunur. İkincil biyoreaktörlerde konsantre bakteri konsorsiyumunda bulunan hidrolazlar ve proteazlar gibi hücre dışı enzimlerin de SARS-CoV'leri inaktive etmesi olasıdır^(79,98,99). Fiziksel süreç (sedimentasyon ve filtrasyon) ve biyolojik süreç (Aktif Çamur Prosesi), enfektif virüsleri inaktive etmeden sıvı fazdan katı faza ayrılmasına/aktarılmaya neden olur. Bu nedenle, virüslerin çeşitli yollardan potansiyel bulaşma riski vardır⁽¹⁰⁰⁾. Termofilik çürütme (50-75°C), kireç ilavesi, mekanik dehidrasyon/kurutma (virüs kapsid kırılması), kompostlama süreci (sıcaklık ve antagonistik organizmalar) ve mezofilik anaerobik çamur çürütme gibi çamur stabilizasyon süreçlerinin uygulamalarında viral inaktivasyon yeteneği görülmüştür^(90,100-102). Arıtma sürecinde SARS-CoV, çevresel koşullar ve mikrobiyal antagonizma nedeniyle inaktivasyonunu sağlayan uygulamalar umut verici uygulamalardır. Bununla birlikte, gübreleme sırasında tarımsal amaçlar için kullanılacak atık çamurlarında aerosol kontrolü uygulanmalıdır. Arıtılmış atık suyun dezenfeksiyonu, güvenilir SARS-CoV-2 inaktivasyonunu sağlamak için önemli adım olabilir. Mekanizmalar net olmasa da SARS-CoV'ler gibi zarflı virüsler, zarfsızlara göre klor bazlı dezenfektanlara daha duyarlı olma eğili-

mindedir. Fakat eğer çevresel matrislerde organik madde içeriği yüksek ise SARS-CoV-2, dezenfektanlara daha az duyarlı olabilir. Enfektif enterik virüslere dezenfekte edilmiş ikincil arıtma çıkışında da rastlanmıştır⁽¹⁰³⁻¹⁰⁵⁾. Pandemi sırasında, ham atık sudaki viral yükler normalden daha yüksek olduğundan, yetersiz viral uzaklaştırma (özellikle dezenfektan dozları arttırılmazsa) suyun yeniden kullanımı yoluyla viral bulaşmaya neden olabilir. Yeniden kullanımı olan atık sular için bazı ülkeler deşarj öncesi üçüncül arıtma uygulamaktadır. Üçüncül arıtma, mikrobiyal patojenlerin daha iyi uzaklaştırılmasını sağlamak için kum filtrasyonu, akifer reşarji, UV radyasyonu, ileri oksidasyon prosesleri (foto-kataliz, soğuk plazma, fenton prosesi, ultrason, nano-kataliz bazlı oksidasyon) ve/veya membran teknolojilerini içerebilir. Oksidanlar ve radyasyon, spesifik olmayan viral proteinlere ve nükleik asitlere zarar verir, ancak spesifik virüs fonksiyonlarının kaybının (konak tanıma/bağlanma, genom enjeksiyonu/replikasyonu) anlaşılması önemlidir⁽¹⁰⁶⁾. UV₂₅₄, singlet oksijen ve hipokloröz asit, genomun güvenilirliğini inhibe ederken, ClO₂ ve ısı uygulamaları, konak hücre tanıma/bağlanma bölgesini inhibe eder. ClO₂ genom fonksiyonlarını bozmadan ClO₂ proteinleri bozarak inaktivasyon sağlar⁽¹⁰⁶⁾. Protein seviyesinde ClO₂ seçici oksidandır ve Cys, Trp ve Tyr ile reaksiyona girer⁽¹⁰⁷⁾. UV ışınlanması ve klor ile arıtma ile site-spesifik kapsit proteinini omurga bölünmesine neden olarak hem genom replikasyonunun hem de genom enjeksiyonunun inhibisyonu meydana gelir⁽¹⁰⁶⁾. UV₂₅₄ uygulaması, insan norovirüs ve enterik (+) ssRNA virüsleri (*Echovirus 12* ve *Feline calicivirus*) için benzer duyarlılık göstermiştir ve protein hasarına bağlı olarak virüs inaktivasyonunun %60'ını oluşturan genom işlevselliğinde kayıp meydana geldiği bildirilmiştir⁽¹⁰⁸⁾. UV₂₅₄ radyasyonun viral genom⁽⁹⁴⁾ ile reaksiyonlar yoluyla SARS-CoV-1'e^(109,110) karşı da etkili olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, gerekli doz (ışın ve zamanın bir fonksiyonu), virüs ve ortam ile ilgili birçok faktöre (yani organik madde konsantrasyonu) bağımlıdır ve geniş bir aralıkta değişir⁽¹¹⁰⁾. İkincil arıtma çıkışı suyunun ozon bazlı arıtımı, ozon tarafından DNA veya RNA saldırısı⁽¹¹¹⁾ yoluyla veya serbest radikaller⁽¹¹²⁾ oluşturarak virüsleri etkin bir şekilde etkisiz hâle getirdiği bilinmektedir. Klorlamaya benzer şekilde,

oksidasyon kapasitesinin arka plandaki bileşenler tarafından önemli ölçüde uzaklaştırılması ve zararlı dezenfeksiyon yan ürünlerinin oluşması olasıdır. Bugüne kadar, SARS-CoV-2 inaktivasyonu için bu dezenfeksiyon işlemlerinin etkinliği bilinmemektedir ve araştırmaya gereksinim vardır. Fonksiyonel genom hasarını hedefleyen ileri ve entegre prosesler, çeşitli viral patojenler için daha iyi yöntemler geliştirmesine yardımcı olacaktır⁽¹⁰⁶⁾.

SONUÇ

Kılıflı βCoV ailesine ait ve ssRNA sahip CoV kaynaklı salgınlar, son yirmi yılda artış göstererek 2019 yılında SARS-CoV-2 (2019) küresel salgın olarak ortaya çıkmıştır⁽¹¹³⁾. Şimdiye kadar elde edilen veriler, insan GI kanalında SARS-CoV-2'nin replikasyonunun ve kalıcılığının kanıtlandığını göstermektedir. Belirti göstermeyen bireyler dâhil dışkı ile virüsün çevre matrisine atılması, fekal-oral yoldan bulaşma olasılığının arttırmaktadır^(114,115). SARS-CoV-2'yi etkili bir şekilde kontrol etme stratejisi, yalnızca belirti gösteren olguların tanımlanmasına ve izole edilmesine dayanmak yerine hastalık belirtisi yokluğunda bulaşma riskini de ele alan birden fazla önleme gereksinim vardır⁽¹¹⁵⁾. Bu kapsamda, atık su bazlı epidemiyoloji sürveyansı geliştirmek belirti göstermeyen olguların da tahmini hakkında daha doğru bilgi verecektir.

Kanalizasyon sistemlerinde SARS-CoV-2 sürveyansı için GI belirtilerle ilişkili atık su mikrobiyomunu oluşturan başlıca bakteri topluluğunun indikatör olarak kullanılabileceğini gösteren kanıtlar⁽¹¹⁶⁾ salgının yayılması ve yüksek riskli mutasyonların varlığı ile mücadelede önemli yeni indikatörleri oluşturmaktadır. AAT'lerdeki tüm SARS-CoV-2 virüs varyantlarının varlığının yeni nesil dizileme teknikleri ile belirlenmesi⁽¹¹⁷⁾ gereksinimi vardır. Moleküler sürveyans araçları ile çeşitli SARS-CoV-2 mutasyonlarının bulaşma dinamiklerini belirlemek, virüs dolaşımının doğru ve düşük maliyetli bir haritasının oluşturulması bakımından önemlidir.

SARS-CoV-2 virionların enfeksiyöz dozda varlığı ve dışkı/atık sudaki kalıcılık süresi, halk sağlığı açısından daha fazla sayıda örnekle incelenmesi ve açıklanması

gereken önemli konulardır. COVID-19 prevalansı düşük olduğunda bile ssRNA virüsünün kanalizasyonda saptanması ve COVID-19'un bildirilen yaygınlığı ile SARS-CoV-2'nin konsantrasyonu arasındaki korelasyon, kanalizasyon sürveyanının popülasyondaki virüsün dolaşımını izlemek için hassas bir araç olabileceğini göstermektedir.

Gelecekte atık su bazlı epidemiyoloji yaklaşımına PCR teknolojisinin yeni teknolojik araçlarla -dijital PCR, CSRPP (CRISPR-powered systems), Lab-on-a-chip/FET (Point of Care ve Field-Effect Transistor) veya SERS (Surface Enhanced Raman Scattering) biyosensörleri- birleştirilmesi beklenmektedir⁽¹¹⁸⁾.

Çevresel matrislerde enterik virüsler için uygun inaktivasyon/arıtma stratejilerini tasarlanması, SARS-CoV-2 yüküne göre yeniden kullanılacak atık su için AAT'lerde uygun dezenfeksiyon proseslerin kullanılması acil önemi olan gereksinimler arasındadır. Su döngüsünde SARS-CoV-2 taşınması ile ilişkili risklerin azaltılması önemli bilgi boşluklarının doldurulması ile olası olabilecektir. Çevre mühendisleri, mikrobiyologlar, halk sağlığı uzmanları, epidemiyologlar, biyostatikçiler aşağıdaki araştırma gereksinimlerini yanıtlamak için birlikte çalışmaktadır:

1. SARS-CoV-2 bulaşma yollarını (hava, su, toprak, yüzeyler) ve enfeksiyonu önlemenin yollarını nasıl tanımlarsınız?
2. Hastaların en bulaşıcı olduğu pencere dönemi nedir?
3. Su ve aerosoller yoluyla SARS-CoV-2'nin minimum bulaşıcı dozu nedir?
4. qPCR analizlerini tamamlayıcı metot olarak virüslerin kültüre edilme testleri ile enfektivitesinin belirlenmesi ve mutasyonlarını saptamak için dizileme teknolojilerinin birlikte kullanılması önemlidir. Çeşitli çevresel habitatlara göre virüs genom dizileme kriterleri neler olmalıdır?
5. Atık su mikrobiyomunda SARS-CoV-2 için indikatör teşkil edecek başlıca bakteriyel topluluklar nelerdir?
6. Suyun yeniden kullanımı ile ilişkili (rekreasyon, soğutma ve tarım) sistemlerde SARS-CoV-2'nin tatlı su habitatlarına getirdiği virüs yükü nedir?
7. Atık su, yeniden kullanılan sular ve içme suyunda

viral ssRNA fragmentlerini ölçen moleküler yaklaşımlar yerine virion analiz metotlarının duyarlılık sınırları nasıl geliştirilebilir?

Bu araştırma soruları, halk sağlığı uzmanlarını ve çevre mühendislerini kentsel su döngüsüne virüslerin girmesi ile meydana gelecek pandemilere hazırlamak için kritik öneme sahiptir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Peplow M. Developing countries face diagnostic challenges as the COVID-19 pandemic surges The Foundation for Innovative New Diagnostics is at the forefront of efforts to expand testing in low- and middle-income countries. C&EN. 2020;98:27. [https://cen.acs.org/analytical-chemistry/diagnostics/Developing-countries-face-diagnostic-challenges/98/i27] (Erişim tarihi: 28.07.2021)
2. Giri AK, Rana DR. Charting the challenges behind the testing of COVID-19 in developing countries: Nepal as a case study. Biosaf Health. 2020;2(2):53-6. https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.05.002
3. Gudbjartsson, DF, Helgason A, Jonsson H, et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population. N Engl J Med. 2020;382(24):2302-15. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2006100
4. Pandey D, Verma S, Verma P., et al. SARS-CoV-2 in wastewater: Challenges for developing countries. Int J Hyg Envir Heal. 2021;231:113634. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113634
5. Arnaud CH. To monitor the health of cities' residents, look no further than their sewers. C&EN. 2018; 96:18. [https://cen.acs.org/environment/water/monitor-health-citiesresidents-look-further/96/i18?ref=search_results] (Erişim Tarihi: 28.07.2021)
6. Kitajima M, Ahmed W, Bibby K, et al. SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. Sci Total Environ. 2020;139076. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076
7. Hellmér M, Paxéus N, Magnus L, et al. Detection of pathogenic viruses in sewage provided early warnings of hepatitis A virus and norovirus outbreaks. Appl Environ Microbiol. 2014;80(21):6771-81. https://doi.org/10.1128/AEM.01981-14

8. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465-69. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>
9. Zhang H, Kang Z, Gong H, et al. The digestive system is a potential route of 2019-nCoV infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. *bioRxiv*. 2020;2020.01.30.927806. <https://doi.org/10.1101/2020.01.30.927806>
10. Ahmed W, Angel N, Edson J, et al. First confirmed detection of SARSCoV- 2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci Total Environ*. 2020;728:138764. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>
11. Randazzo W, Cuevas-Ferrando E, Sanjuán R, Domingo-Calap P, Sánchez G. Metropolitan wastewater analysis for COVID-19 epidemiological surveillance. *Int J Hyg Environ*. 2020;230:113621. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113621>
12. La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci Total Environ*. 2020;736:139652. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139652>
13. Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R, Brouwer A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ Sci Technol Lett*. 2020;7(7):511-6. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>
14. Haramoto E, Malla B, Thakali O. First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 ssRNA in wastewater and river water in Japan. *Sci Total Environ*. 2020;737:404-5. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.35057>
15. Bivins A, North D, Ahmad A, et al. Wastewater-based epidemiology: global collaborative to maximize contributions in the fight against COVID-19. *Environ Sci Technol*. 2020;54(13):7754-7. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02388>
16. Hempel, S. John Snow. *Lancet*. 2013;381(9874):1269-70. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60830-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60830-2)
17. Daughton CG. (2001). Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new nonintrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit-abused drugs and their potential for ecological consequences. In: *Pharmaceuticals and Care Products in the Environment*; ACS Symposium Series, American Chemical Society: Washington, DC, 2001:348-64.
18. Sewage Analysis CORE group Europe (SCORE). [<https://score-cost.eu/>] (Erişim tarihi: 28.07.2021)
19. COVID-19 WBE Collaborative. [<https://www.covid19wbec.org/>] (Erişim tarihi: 28.07.2021)
20. Venkatesan AK, Halden RU. Wastewater treatment plants as chemical observatories to forecast ecological and human health risks of manmade chemicals. *Sci Rep*. 2014;4(1):1-7. <https://doi.org/10.1038/srep03731>
21. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) advice for the public Geneva: World Health Organization, 2020. [<https://www.who.int/emergencies/diseases/novelcoronavirus-2019/advice-for-public>]. (Erişim tarihi: 28.07.2021)
22. WHO. Transmission of SARSCoV-2: implications for infection prevention precautions. World Health Organization, 2020. [<https://www.who.int/publications/i/item/modes-oftransmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>]. (Erişim tarihi: 28.07.2021)
23. Amirian ES. Potential fecal transmission of SARS-CoV-2: current evidence and implications for public health. *Int J Infect Dis*. 2020;95:363-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.057>
24. Xu Y, Li X, Zhu B, et al. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nat Med*. 2020;26(4):502-5. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0817-4>
25. Zhang Y, Cao C, Shuangli Z, et al. Isolation of 2019-nCoV from a stool specimen of a laboratory-confirmed case of the coronavirus disease 2019 (COVID-19). *China CDC Weekly*. 2020;2(8):123-4. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2020.033>
26. Zhang J, Wang S, Xue Y. Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus-infected pneumonia. *J Med Virol*. 2020;92(6):680-2. <https://doi.org/10.1002/jmv.25742>
27. Wigginton KR, Boehm AB. Environmental engineers and scientists have important roles to play in stemming outbreaks and pandemics caused by enveloped viruses. *Environ Sci Technol*. 2020;54(7):3736-9. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c01476>
28. La Rosa G, Mancini P, Bonanno FG, et al. SARS-CoV-2 has been circulating in northern Italy since December 2019: evidence from environmental monitoring. *Sci Total Environ*. 2020;750:141711. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141711>
29. Ooi MH, Wong SC, Lewthwaite P, Cardosa MJ, Solomon T. Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71. *Lancet Neurol*. 2010;9(11):1097-105. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70209-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70209-X)
30. Gerba CP. Virus occurrence and survival in the environmental waters. *Perspect Med Virol*. 2007;17:91-108.

- [https://doi.org/10.1016/S0168-7069\(07\)17005-1](https://doi.org/10.1016/S0168-7069(07)17005-1)
31. Hemalatha M, Kiran U, Kuncha SK, et al. Surveillance of SARS-CoV-2 spread using wastewater-based epidemiology: Comprehensive study. *Sci Total Environ.* 2021;768:144704. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144704>
 32. Gerba CP. Environmentally transmitted pathogens. *Environmental Microbiology.* 2009:445-84. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00022-3>
 33. Bibby K, Aquino de Carvalho N, Wigginton K. Research needs for wastewater handling in virus outbreak response. *Environ Sci Technol.* 2017;51(5):2534-5. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06492>
 34. Rusiñol M, Gironés R. Summary of excreted and waterborne viruses. In: Rose JB, Jiménez-Cisneros B (Eds) *Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)*. Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO, 2017. <https://doi.org/10.14321/waterpathogens.19>
 35. Wu Y, Guo C, Tang L, et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral ssRNA in faecal samples. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;5(5):434-35. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2)
 36. Sun J, Zhu A, Li H, et al. Isolation of infectious SARS-CoV-2 from urine of a COVID-19 patient. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9:991-3. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1760144>
 37. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507-13. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
 38. Chen Y, Chen L, Deng Q, et al. The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients. *J Med Virol.* 2020;92(7):833-40. <https://doi.org/10.1002/jmv.25825>
 39. Lo IL, Lio CF, Cheong HH, et al. Evaluation of SARS-CoV-2 RNA shedding in clinical specimens and clinical characteristics of 10 patients with COVID-19 in Macau. *Int J Biol Sci.* 2020;16:1698-707. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45357>
 40. Lin L, Jiang X, Zhang Z, et al. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. *Gut.* 2020;69(6):997-1001. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321013>
 41. Wu F, Xiao A, Zhang J, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems.* 2020;5(4):e00614-20. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00614-20>
 42. Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology.* 2020;158(6):1831-3.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>
 43. Wang XW, Li JS, Guo TK, et al. Concentration and detection of SARS coronavirus in sewage from Xiao Tang Shan Hospital and the 309th Hospital. *J Virol Methods.* 2005;128(1-2):156-61. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.03.022>
 44. Wurtzer S, Marechal V, Mouchel J, et al. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv.* 2020;2020.04.12.20062679. <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>
 45. La Rosa G, Bonadonna L, Lucentini L, Kenmoe S, Suffredini E. Coronavirus in water environments: occurrence, persistence and concentration methods-A scoping review. *Water Res.* 2020;179:115899. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115899>
 46. Nemudryi A, Nemudraia A, Wiegand T. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *Cell Rep Med.* 2020;1(6):100098. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100098>
 47. Wigginton KR, Ye Y, Ellenberg RM. Emerging investigators series: the source and fate of pandemic viruses in the urban water cycle. *Environ Sci Water Res Technol.* 2015;6(1):735-46. <https://doi.org/10.1039/C5EW00125K>
 48. Madigan MT, Martinko JM, Parker J, Brock TD. *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson Education, 2018.
 49. Xagorarakis I, Yin Z, Svambayev Z. Fate of viruses in water systems. *J Environ Eng.* 2014;140(7):04014020. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000827](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000827)
 50. Greening GE, Hewitt J, Lewis GD. Evaluation of integrated cell culture-PCR (C-PCR) for virological analysis of environmental samples. *J Appl Microbiol.* 2002;93:745-50. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01741.x>
 51. Wang XW, Li JS, Jin M, et al. Study on the resistance of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. *J Virol Methods.* 2005;126(1-2):171-7. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.02.005>
 52. Ahmed W, Bertsch PM, Bivins A, et al. Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR-based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. *Sci Total Environ.* 2020;739:139960. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139960>
 53. Peccia J, Zulli A, Brackney DE., et al. SARS-CoV-2 RNA concentrations in primary municipal sewage sludge as a leading indicator of COVID-19 outbreak dynamics. *medRxiv.* 2020;2020.05.19.20105999. <https://doi.org/10.1101/2020.05.19.20105999>

54. Gonzalez R, Curtis K, Bivins A, et al. COVID-19 surveillance in southeastern Virginia using wastewater-based epidemiology. *Water Res.* 2020;186:116296.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116296>
55. Green H, Wilder M, Collins M, et al. Quantification of SARS-CoV-2 and cross-assembly phage (crAssphage) from wastewater to monitor coronavirus transmission within communities. *medRxiv.* 2020;2020.05.21.20109181.
<https://doi.org/10.1101/2020.05.21.20109181>
56. Sherchan SP, Shahin S, Ward LM, et al. First detection of SARS-CoV-2 ssRNA in wastewater in North America: a study in Louisiana, USA. *Sci Total Environ.* 2020;743:140621
57. Westhaus S, Weber FA, Schiwiy S, et al. Detection of SARS-CoV-2 in raw and treated wastewater in Germany-suitability for COVID-19 surveillance and potential transmission risks. *Sci Total Environ.* 2020;751:141750.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141750>
58. Fongaro G, Stoco PH, Sobral Marques Souza D, et al. The presence of SARS-CoV-2 RNA in human sewage in Santa Catarina, Brazil, November 2019. *Sci Total Environ.* 2020;778:146198.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146198>
59. Prado T, Fumian, TM, Mannarino CF, Maranhão AG, Siqueira MM, Miagostovich MP. Preliminary results of SARS-CoV-2 detection in sewerage system in Niterói municipality. Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2020;115:e200196.
<https://doi.org/10.1590/0074-02760200196>
60. Mlejnkova H, Sovova K, Vasickova P, Ocenaskova V, Jasikova L, Juranova E. Preliminary study of Sars-Cov-2 occurrence in wastewater in the Czech Republic. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(15):5508.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17155508>
61. Guerrero-Latorre L, Ballesteros I, Villacrés-Granda I, et al. SARS-CoV-2 in river water: Implications in low sanitation countries. *Sci Total Environ.* 2020;743:140832.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140832>
62. Trottier J, Darques R, Ait Mouheb N, et al. Post-lockdown detection of SARS-CoV-2 RNA in the wastewater of Montpellier, France. *One Health.* 2020;10:100157.
<https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2020.100157>
63. Kumar M, Patel AK, Shah AV. First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARSCoV-2. *Sci Total Environ.* 2020;746:141326.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141326>
64. Arora S, Nag A, Sethi J, Rajvanshi J, et al. Sewage surveillance for the presence of SARS-CoV-2 genome as a useful wastewater based epidemiology (WBE) tracking tool in India. *Water Sci Technol.* 2020;82(12):2823-36.
<https://doi.org/10.2166/wst.2020.540>
65. Martin J, Klapsa D, Wilton T. Tracking SARS-CoV-2 in sewage: evidence of changes in virus variant predominance during COVID-19 pandemic. *Viruses.* 2020;12(10):E1144.
<https://doi.org/10.3390/v12101144>
66. Bar-Or I, Yaniv K, Shagan M, et al. Regressing SARS-CoV-2 sewage measurements onto COVID-19 burden in the population: a proof-of-concept for quantitative environmental surveillance. *medRxiv.* 2020;2020.04.26.20073569.
<https://doi.org/10.1101/2020.04.26.20073569>
67. Randazzo W, Truchado P, Cuevas-Ferrando E, Simón P, Allende A, Sánchez G. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Res.* 2020;181:115942.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942>
68. Balboa S, Mauricio-Iglesias M, Rodríguez S, et al. The fate of SARS-COV-2 in WWTPS points out the sludge line as a suitable spot for detection of COVID-19. *Sci Total Environ.* 2021;772:145268.
<https://doi.org/10.1101/2020.05.25.20112706>
69. Chavarria-Miró G, Anfruns-Estrada E, Guix S, Paraira M. Sentinel surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater anticipates the occurrence of COVID-19 cases. *medRxiv.* 2020;2020.06.13.20129627.
<https://doi.org/10.1101/2020.06.13.20129627>
70. Rimoldi SG, Stefani F, Gigantiello A, et al. Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. *Sci Total Environ.* 2020;744:140911.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140911>
71. Yaqub T, Nawaz M, Shabbir MZ, et al. A longitudinal survey for genome-based identification of SARS-CoV-2 in sewage water in selected lockdown areas of Lahore city, Pakistan; a potential approach for future smart lockdown strategy. *medRxiv.* 2020;2020.07.31.20165126.
<https://doi.org/10.1101/2020.07.31.20165126>
72. Sharif S, Ikram A, Khurshid A, et al. Detection of SARS-CoV-2 in wastewater, using the existing environmental surveillance network: An epidemiological gateway to an early warning for COVID-19 in communities. *medRxiv.* 2020;2020.06.03.20121426.
<https://doi.org/10.1101/2020.06.03.20121426>
73. Ampuero M, Valenzuela S, Valiente-Echeverria F, et al. SARS-CoV-2 detection in sewage in Santiago, Chile - preliminary results. *medRxiv.* 2020;2020.07.02.20145177.
<https://doi.org/10.1101/2020.07.02.20145177>

74. Kocamemi BA, Kurt H, Hacıoglu S, Yarali C, Saatci AM, Pakdemirli B. First data-set on SARS-CoV-2 detection for Istanbul wastewaters in Turkey. medRxiv. 2020;2020.05.03.20089417. <https://doi.org/10.1101/2020.05.03.20089417>
75. Kocamemi BA, Kurt H, Sait A, Sarac F, Saatci AM, Pakdemirli B. SARS-CoV-2 detection in Istanbul wastewater treatment plant sludges. medRxiv. 2020;2020.05.12.20099358 <https://doi.org/10.1101/2020.05.12.20099358>
76. Kocamemi BA, Kurt H, Sait A, et al. Nationwide SARS-CoV-2 Surveillance study for sewage and sludges of wastewater treatment plants in Turkey. medRxiv. 2020;2020.11.29.20240549 <https://doi.org/10.1101/2020.11.29.20240549>
77. Araud E, Fuzawa M, Shisler JL, Li J, Nguyen TH. UV inactivation of rotavirus and Tulane virus targets different components of the virions. Appl Environ Microbiol. 2020;86(4):e02436-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.02436-19>
78. Callanan J, Stockdale SR, Shkoporov A, Draper LA, Ross RP, Hill C. Expansion of known ssRNA phage genomes: from tens to over a thousand. Sci Adv. 2020;6(6):eaay5981. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aay5981>
79. Ye Y, Ellenberg RM, Graham KE, Wigginton KR. Survivability, partitioning, and recovery of enveloped viruses in untreated municipal wastewater. Environ Sci Technol. 2016;50:5077-85. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00876>
80. Bar-On YM, Flamholz A, Phillips R, Milo R. Science Forum: SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. eLife. 2020;9:e57309. <https://doi.org/10.7554/eLife.57309>
81. Watanabe T, Bartrand TA, Weir MH, Omura T, Haas CN. Development of a dose-response model for SARS coronavirus. Risk Anal. 2010;30:1129-38. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2010.01427.x>
82. Lindsley WG, Pearce TA, Hudnallet JB, et al. Quantity and size distribution of cough-generated aerosol particles produced by influenza patients during and after illness. J Occup Environ Hyg. 2012;9(7):443-9. <https://doi.org/10.1080/15459624.2012.684582>
83. Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. Lancet Microbe. 2020;1(4):e145. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30003-3)
84. Geller C, Varbanov M, Duval RE. Human coronaviruses: insights into environmental resistance and its influence on the development of new antiseptic strategies. Viruses. 2012;4(11):3044-68. <https://doi.org/10.3390/v4113044>
85. Gundy PM, Gerba CP, Pepper IL. Survival of coronaviruses in water and wastewater. Food Env. Virol. 2009;1:10. <https://doi.org/10.1007/s12560-008-9001-6>
86. Adapted from “Quantifying SARS-Cov-2 virions in city wastewater”, by BioRender (2021). [<https://app.biorender.com/biorender-templates>] (Erişim tarihi: 28.07.2021)
87. Castiglioni S, Thomas KV, Kasprzyk-Hordern B, Vandam L, Griffiths P. Testing wastewater to detect illicit drugs: state of the art, potential and research needs. Sci Total Environ. 2014;487:613-20. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.034>
88. Hart OE, Halden RU. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: feasibility, economy, opportunities and challenges. Sci Total Environ. 2020;730:138875. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138875>
89. Brisebois E, Veillette M, Dion-Dupont V, et al. Human viral pathogens are pervasive in wastewater treatment center aerosols. J Environ Sci (China). 2018;67:45-53. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.07.015>
90. Monpoeho S, Maul A, Bonnin C, et al. Clearance of human-pathogenic viruses from sludge: study of four stabilization processes by real-time reverse transcription-PCR and cell culture. Appl Environ Microbiol. 2004;70:5434-40. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5434-5440.2004>
91. Cashdollar JL, Wymer L. Methods for primary concentration of viruses from water samples: a review and meta-analysis of recent studies. J Appl Microbiol. 2013;115(1):1-11. <https://doi.org/10.1111/jam.12143>
92. Haramoto E, Kitajima M, Hata A, et al. A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. Water Res. 2018;135:168-86. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.004>
93. Petrovich ML, Ben Maamar S, Hartmann EM, Murphy BT, Poretsk RS, Wells GF. Viral composition and context in metagenomes from biofilm and suspended growth municipal wastewater treatment plants. Microb Biotechnol. 2019;12(6):1324-36. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13464>
94. Ye Y, Chang PH, Hartert J, Wigginton KR. Reactivity of enveloped virus genome, proteins, and lipids with free chlorine and UV 254. Environ Sci Technol. 2018;52(14):7698-708. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00824>
95. Kitajima M, Iker BC, Pepper IL, Gerba CP. Relative abundance and treatment reductin of viruses during wastewater treatment processes - identification of potential viral indicators. Sci Total Environ. 2014;488:290-6.

- <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.087>
96. Zhou J, Wang XC, Ji Z, Xu L, Yu Z. Source identification of bacterial and viral pathogens and their survival/fading in the process of wastewater treatment, reclamation and environmental reuse. *World J Microb Biotechnol.* 2015;31(1):109-20.
<https://doi.org/10.1007/s11274-014-1770-5>
97. Shirasaki N, Matsushita T, Matsui Y, Oshiba A, Ohno K. Estimation of norovirus removal performance in a coagulation - rapid sand filtration process by using recombinant norovirus VLPs. *Water Res.* 2010;44(5):1307-16.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.10.038>
98. Chaudhry RM, Nelson KL, Drewes JE. Mechanisms of pathogenic virus removal in a full-scale membrane bioreactor. *Environ Sci Technol.* 2015;49(5):2815-22.
<https://doi.org/10.1021/es505332n>
99. Lv W, Zheng X, Yang M, Zhang Y, Liu Y, Liu, J. Virus removal performance and mechanism of a submerged membrane bioreactor. *Process Biochem.* 2006;41(2):299-304.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.06.005>
100. Zhang M, Xu LM, Xu PC, Wang XC. Elimination of viruses from domestic wastewater: requirements and technologies. *World J Microbiol Biotechnol.* 2016;32(4):69-78.
<https://doi.org/10.1007/s11274-016-2018-3>
101. Jofre GJ, Montemayor M, Lucena F. Occurrence and levels of indicators and selected pathogens in different sludges and biosolids. *J Appl Microbiol.* 2007;103(6):2420-9.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03487.x>
102. Dumontet S, Dinel H, Baloda SB. Pathogen reduction in sewage sludge by composting and other biological treatments: a review. *Biol Agric Hort.* 1999;16(4):409-30.
<https://doi.org/10.1080/01448765.1999.9755243>
103. Carducci A, Battistini R, Rovini E, Verani M. Viral removal by wastewater treatment: Monitoring of indicators and pathogens. *Food Environ Virol.* 2009;1:85-91.
<https://doi.org/10.1007/s12560-009-9013-x>
104. Qiu Y, Lee BE, Neumann N, et al. Assessment of human virus removal during municipal wastewater treatment in Edmonton, Canada. *J Appl Microbiol.* 2015;119(6):1729-39.
<https://doi.org/10.1111/jam.12971>
105. Tchobanoglous G, Burton FL, Stensel HD. *Wastewater Engineering, Treatment and Reuse.* McGraw-Hill; 2004.
106. Wigginton KR, Pecson BM, Sigstam T, Bosshard F, Kohn T. Virus inactivation mechanisms: impact of disinfectants on virus function and structural integrity. *Environ Sci Technol.* 2012;46(21):12069-78.
<https://doi.org/10.1021/es3029473>
107. Ison A, Odeh IN, Margerum DW. Kinetics and mechanisms of chlorine dioxide and chlorite oxidations of cysteine and glutathione. *Inorg Chem.* 2006;45(21):8768-75.
<https://doi.org/10.1021/ic0609554>
108. Torrey J, Gunten U, Kohn T. Differences in viral disinfection mechanisms as revealed by quantitative transfection of echovirus 11 genomes. *Appl Environ Microb.* 2019;85(14): e00961-1019.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00961-19>
109. Duan SM, Zhao XS, Wen RF, et al. Stability of SARS coronavirus in human specimens and environment and its sensitivity to heating and UV irradiation. *Biomed Environ Sci.* 2003;16(3):246-55.
110. Derraik JGB, Anderson WA, Connelly EA, Anderson YC. Rapid evidence summary on SARS-CoV-2 survivorship and disinfection, and a reusable PPE protocol using a double-hit process. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(17):6117.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17176117>
111. von Sonntag C, von Gunten U. *Chemistry of Ozone in Water and Wastewater Treatment: From Basic Principles to Applications.* IWA Publishing;2012.
112. von Sonntag C. *Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair A Chemical Perspective.* Almanya, Springer;2006.
113. Meşe S, Ağaçfidan A. Coronavirus: Genel özellikler ve güncel yaklaşım. *Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi.* 2020;3(S1):14-23.
<https://doi.org/10.26650/JARHS2020-S1-0002>
114. Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S. SARS-CoV-2 Transmission from people without COVID-19 symptoms. *JAMA Netw Open.* 2021;4(1):e2035057.
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.35057>
115. Benefield AE, Skrip LA, Clement A, Althouse RA, Chang S, Althouse BM. SARS-CoV-2 viral load peaks prior to symptom onset: a systematic review and individual-pooled analysis of coronavirus viral load from 66 studies. *medRxiv.* 2020;2020.09.28.20202028.
<https://doi.org/10.1101/2020.09.28.20202028>
116. Gallardo-Escárate C, Valenzuela-Muñoz V, Núñez-Acuña G, et al. The wastewater microbiome: A novel insight for COVID-19 surveillance. *Sci Total Environ.* 2021;10;764:142867.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142867>
117. Crits-Christoph A, Kantor RS, Olm MR, et al. Genome sequencing of sewage detects regionally prevalent SARS-CoV-2 variants. *Mbio.* 2021;12(1):e02703-20.
<https://doi.org/10.1128/mBio.02703-20>
118. Barceló D. Wastewater-Based Epidemiology to monitor COVID-19 outbreak: Present and future diagnostic methods to be in your radar. *Case Stud Chem Environ Eng.* 2020;2:100042.
<https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100042>