



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΙΤΛΟΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΕΙΑ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

**Τίτλος εργασίας**

**ΔΙΑΧΡΟΝΙΚΗ ΠΟΣΟΣΤΙΑΙΑ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΜΕΣΟΥ ΗΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΣΤΑ ΑΣΤΙΚΑ  
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΑ ΚΑΤΑΓΕΓΡΑΜΜΕΝΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ.**

**Συγγραφέας/είς**

**Ονοματεπώνυμο**

**Μουζάι Αλέξια**

**ΑΜ: ΜΕΡΥ20020**

**Επιβλέπων/ουσα:**

**Ονοματεπώνυμο**

**Εβρένογλου Λευκοθέα**

**Αθήνα, ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2022**



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA**

**SCHOOL OF PUBLIC HEALTH**

**DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH POLICIES**

**TITLE OF POSTGRADUATE PROGRAM (MSc/MBA)**

**MSc in Occupational and Environmental Health**

**Diploma Thesis**

**Title**

**SARS-COV-2 LOAD IN URBAN WASTEWATER OVERTIME PERCENTILE  
ALTERATION IN CORRELATION WITH RECORDED COVID CASES.**

**Student name and surname:**

**Mouzai Alexia**

**Registration Number:**

**MEPY20020**

**Supervisor name and surname:**

**Evrenoglou Leukothea**

**Athens, January 2022**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΠΟΛΙΤΙΚΩΝ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΙΤΛΟΣ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΥΓΕΙΑ**

**Τίτλος εργασίας**

**ΔΙΑΧΡΟΝΙΚΗ ΠΟΣΟΣΤΙΑΙΑ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΜΕΣΟΥ ΠΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ ΣΤΑ ΑΣΤΙΚΑ  
ΛΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΑ ΚΑΤΑΓΕΓΡΑΜΜΕΝΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ.**

**Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή**

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

<b>A/a</b>	<b>ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΑΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ</b>	<b>ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
<b>1</b>	<b>Λευκοθέα Εβρένογλου</b>	Αναπληρώτρια Καθηγήτρια	
<b>2</b>	<b>Γεώργιος Ντούνιας</b>	Καθηγητής	
<b>3</b>	<b>Ιωάννα Δαμικούκα</b>	Επίκουρη Καθηγήτρια	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/η Μουζάι Αλέξια του Έκτωρ, με αριθμό μητρώου ΜΕΡΥ20020 φοιτητής/τρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Επαγγελματικής και Περιβαλλοντικής Υγείας του Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας της Σχολής Πολιτικών της Υγείας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

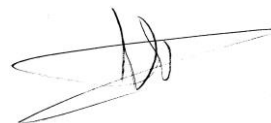
«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

*\*Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι ..... και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή.*

Ο/Η Δηλών/ούσα

Μουζάι Αλέξια



**\* Ονοματεπώνυμο /Ιδιότητα**

**Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα**  
(Υπογραφή)

**\* Εάν κάποιος επιθυμεί απαγόρευση πρόσβασης στην εργασία για χρονικό διάστημα 6-12 μηνών (embargo), θα πρέπει να υπογράψει ψηφιακά ο/η επιβλέπων/ουσα καθηγητής/τρια, για να γνωστοποιεί ότι είναι ενημερωμένος/η και συναινεί. Οι λόγοι χρονικού αποκλεισμού πρόσβασης περιγράφονται αναλυτικά στις πολιτικές του Ι.Α. (σελ. 6):**

[https://www.uniwa.gr/wp-content/uploads/2021/01/%CE%A0%CE%BF%CE%BB%CE%B9%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%B5%CC%81%CF%82\\_%CE%99%CE%B4%CF%81%CF%85%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CF%85%CC%81\\_%CE%91%CF%80%CE%BF%CE%B8%CE%B5%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%B9%CC%81%CE%BF%CF%85\\_final.pdf](https://www.uniwa.gr/wp-content/uploads/2021/01/%CE%A0%CE%BF%CE%BB%CE%B9%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%B5%CC%81%CF%82_%CE%99%CE%B4%CF%81%CF%85%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CF%85%CC%81_%CE%91%CF%80%CE%BF%CE%B8%CE%B5%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%B9%CC%81%CE%BF%CF%85_final.pdf)

## **Ευχαριστίες**

Αφιερώνω τη διπλωματική μου εργασία στα παιδιά μου Θάνο και Αρετή.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Πρώτη από όλους ευχαριστώ την επιβλέπουσα μου κα. Εβρένογλου Λευκοθέα για την στήριξη και την καθοδήγηση που μου προσέφερε κατά την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τον σύζυγο μου Λεωνίδα, την μητέρα μου Αρετή, την Σταματία, τον Θάνο, την Αρετή και την Πάνη για την στήριξη, την υπομονή, την κατανόηση και την πολύτιμη βοήθεια τους κατά την διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών.

## Περίληψη

**Σκοπός:** Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η συσχέτιση των καταγεγραμμένων κρουσμάτων με τα ποσοστά μεταβολής του ιικού φορτίου των μετρήσεων των λυμάτων στην περιοχή της Αττικής, συλλέγοντας τις πληροφορίες που δίνονται στις Ημερήσιες Εκθέσεις Επιδημιολογικής Επιτήρησης λοίμωξης από τον νέο κορωνοϊό SARS-CoV-2 από τον ΕΟΔΥ , καθώς και η απόκτηση γνώσεων για την ανάλυση και ερμηνεία των δεδομένων.

**Υλικό και μέθοδος:** Συγκεκριμένα γίνεται χρήση των στοιχείων των ημερησίων εκθέσεων όπου γίνεται αναφορά στο ημερήσιο αριθμό και κρούσματα ανά 100.000 πληθυσμού επιβεβαιωμένων εγχώριων κρουσμάτων Covid 19 ανά περιφερειακή ενότητα της χώρας. Όπως επίσης των ημερησίων εκθέσεων όπου αναφέρεται η ποσοστιαία εβδομαδιαία μεταβολή στην μέση συγκέντρωση του ιικού φορτίου SARS-CoV-2 στα αστικά λύματα ανά 100.000 κατοίκους. Ακολούθησε η μετατροπή τους σε ίδιες μονάδες μέτρησης και σε ποσοστά επί της εκατό για 39 εβδομάδες κατά την διάρκεια της πανδημίας.

Για την συσχέτιση της σχέσης ημερησίων κρουσμάτων και ποσοστιαίας μεταβολής στην μέση συγκέντρωση του ιικού φορτίου SARS-CoV-2 των λυμάτων συλλέχθηκαν τα δεδομένα, κωδικοποιήθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε μια βάση δεδομένων του SPSS Statistics 27.

**Συμπέρασμα:** Η συσχέτιση των καταγεγραμμένων κρουσμάτων και των συγκεντρώσεων ιικού φορτίου SARS-CoV-2 στα λύματα φαίνεται να υπάρχει. Τα λύματα αποτελούν ένα καλό οικονομικό εργαλείο το οποίο μας δείχνει με τις μεταβολές που παρουσιάζουν οι μετρήσεις τους τις τάσεις της εξέλιξης της μόλυνσης από COVID-19 στην κοινότητα. Λόγο της σύνθεσης τους ως υλικό προς εξέταση καθώς και άλλων παραμέτρων το ιικό RNA μεταβάλετε προκαλώντας σύγχυση στις συσχετίσεις καθώς και στην έγκαιρη προειδοποίηση. Αναζητούνται αναλυτικά πρωτοκολλά που θα συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των διακυμάνσεων που παρουσιάζει ώστε όλες οι επιστημονικές ομάδες να ακολουθούν ίδιες τακτικές ανίχνευσης του ιού.

## Λέξεις-κλειδιά

**SARS-CoV-2, Λύματα, Ακίδα S, ACE2, RT-PCR.**

## **Abstract**

**Purpose:** The main purpose of this paper is the analyzing information gathered from EODY's Daily Epidemiology Reports, we aim to examine a possible correlation between SARS-CoV-2 cases and sewage within the region of Attica and reach conclusions.

**Methods:** The SPSS Statistics 27 was utilized. Two variables were created coming from EODY's Daily Reports. One was accrued from daily covid cases and another from weekly sewage, both per 100.000 population. All were transmuted to the same measures- that of percentile differences between weeks, for a total of 39 weeks of the pandemic- so that they could be analyzed.

## **Conclusion**

The results show a correlation between covid cases and sewage. Measuring sewage can be a good economic tool, used as an index of the covid 19 surge in society. However, due to sewage's constitution and other parameters, viral RNA concentration can differ. This can partly result in possible confusion at predicting and preventing outcomes. Harmonized protocols should be introduced in order to avoid measurement variances.

## **Keywords**

**SARS-CoV-2, WASTEWATER, SPIKE PROTEIN (S), ACE2, RT-PCR**



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	
ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΚΟΡΩΝΟΙΩΝ CoVs	
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	18
1.2 Φυλογενετική κατάταξη.....	19
1.3 Ιστορική αναδρομή.....	20
1.4 Δομή Χαρακτηριστικά και Ιδιότητες Κορωνοϊών (CoVs).....	21
1.5 Συμπτωματολογία κορωνοϊών.....	23
1.5.1 Sars CoV.....	24
1.5.2 MERS CoV.....	24
1.5.3 SARS-CoV-2 ή Covid 19.....	25
1.6 Ξενιστές, Δεξαμενές κορωνοϊών και Συγκρίσεις μεταξύ τους.....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	
SARS-CoV-2	
2.1 Ιστορική αναδρομή SARS-CoV-2.....	28
2.2 Δομή γονιδιώματος SARS-CoV-2.....	30
2.3 Κύκλος ζωής του ιού SARS-CoV-2.....	33
2.4 Πρωτεΐνες γονιδιώματος SARS-CoV-2.....	34
2.4.1 Δομικές πρωτεΐνες.....	34
2.4.2 Μη δομικές πρωτεΐνες.....	36
2.6 Χρόνος επώασης του ιού.....	37
2.6 Ορισμοί συμπτωματολογίας.....	38
2.6.1 Συμπτώματα.....	38
2.7 Μετάδοση.....	39
2.7.1 Ικανότητα μετάδοσης SARS-CoV-2.....	41
2.8 ACE2 και ανθρώπινος οργανισμός.....	41
2.9 Παρουσία Sars CoV-2 στα κόπρανα.....	42

2.10 Πρόληψη της μετάδοσης SARS-CoV-2.....	44
2.10.1 Μέτρα δημόσιας υγείας.....	45
2.11 Διάγνωση SARS-CoV-2.....	46
2.11.1 Ανίχνευση SARS-CoV-2 σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα.....	46
2.11.2 Λήψη.....	47
2.11.3 RT-PCR.....	49
2.11.4 Ανίχνευση αντισωμάτων SARS-CoV-2.....	49
2.12 Μεταλλάξεις SARS-CoV-2.....	50
2.13 Εμβόλια.....	51
Κεφάλαιο 3	
Επιτήρηση λυμάτων	
3.1 Γενικά για την επιτήρηση λυμάτων.....	52
3.2 Μέτρηση ιικού RNA SARS-COV-2 στα λύματα.....	53
3.3 Πλεονεκτήματα μετρήσεων SARS-CoV-2 στα λύματα κατά την διάρκεια της πανδημίας.....	54
3.4 Μέτρηση ιικού φορτίου.....	55
3.5 Επιτήρηση λυμάτων και Ευρωπαϊκή Ένωση.....	58
3.6 Σύσταση λυμάτων κατά την απαγόρευση κυκλοφορίας στην Αθήνα.....	60
3.7 Δειγματοληψία.....	64
3.8 Συλλογή δείγματος.....	66
3.9 Αποθήκευση του δείγματος.....	67
3.10 Επεξεργασία.....	67
3.11 Ανίχνευση RNA.....	68
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	
Αποτελέσματα	
4.1. Σκοπός μελέτης.....	69
4.2 Μεθοδολογία και εργαλεία έρευνας.....	70
4.3 Ερευνητικά Ερωτήματα.....	70
4.3.1 Ηθική και Δεοντολογία.....	70

4.3.2 Στατιστική επεξεργασία.....	70
4.4 Περιγραφική Στατιστική.....	71
4.5 Επαγωγική στατιστική.....	76
4.8 Αποτελέσματα.....	77
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	79
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	83
Βιβλιογραφία.....	84

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά και Παθογένεση CoVs.....	27
Πίνακας 2: Σύγκριση κοκαΐνης, αμφεταμίνης, μεθαμφεταμίνης και έκσταση 2019/2020 σε μέτρηση mg/ημέρα/1000 άτομα.....	61
Πίνακας 3: Μετρήσεις χημικών ουσιών και % αλλαγής των ετών 2019/2020.....	62
Πίνακας 4: Σύγκριση αλλαγών κατανάλωσης 7 φαρμάκων περιόδου Μάρτιου/Απριλίου.....	63
Πίνακας 5. Διαχρονική ποσοστιαία μεταβολή Μ.Ε.Ι.Φ. SARS-CoV-2 για το διάστημα Μάρτιος-Νοέμβριος 2021.....	72
Πίνακας 6. Σύγκριση ποσοστιαίας μεταβολής μέσου εβδομαδιαίου ηικού φορτίου και κρουσμάτων SARS-CoV-2 για το διάστημα Μάρτιος- Νοέμβριος 2021.....	74
Πίνακας 7. Συσχέτιση κατά Pearson (Pearson product-moment correlation).....	76
Πίνακας 8. One-Way ANOVA. Σχέση ποσοστιαίας διαφοράς ηικού φορτίου και κρουσμάτων.....	77

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Επιβεβαιωμένα κρούσματα SARS-CoV-2 από 2/2020-1/2022.....	29
Διάγραμμα 2: Επιβεβαιωμένα κρούσματα ανά τον κόσμο.....	30
Διάγραμμα 3: Σύγκριση κατανάλωσης Αντιικών φαρμάκων 2019 με το 2020 περίοδος lockdown στην Αθηνά.....	63
Διάγραμμα 4: Σύγκριση κατανάλωσης Αντιβιοτικών φαρμάκων 2019 με 2020 περίοδος lockdown στην Αθηνά.....	64
Διάγραμμα 5. Διαχρονική ποσοστιαία μεταβολή ιικού φορτίου SARS-CoV-2 (κάθετος άξονας) σε εβδομάδες (οριζόντιος άξονας) για το διάστημα Μάρτιος-Νοέμβριος 2021. ....	73
Διάγραμμα 6. Σύγκριση ποσοστιαίας εβδομαδιαίας μεταβολής ιικού φορτίου και κρουσμάτων SARS-CoV-2.....	75

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Φυλογενετικό δέντρο κορωνοϊών το προστιθέμενο νέο μέλος SARS-CoV-2.....	19
Εικόνα 2: Μορφολογία κορωνοϊού στην ηλεκτρονική μικροσκόπηση σε σύγκριση με την έκλειψη ηλίου και την ονοματοδοσία του ιού.....	23
Εικόνα 3: Πίνακας ελέγχου καταγεγραμμένων κρουσμάτων και θανάτων του ΠΟΥ από COVID-19.....	29
Εικόνα 4: Σύγκριση γονιδιωματική σειράς των Betacoronavirus για τους ανθρωπίνους κορωνοϊούς (SARS-CoV-2, SARS-CoV).....	31
Εικόνα 5: Αναλυτική γονιδιωματική οργάνωση του SARS-CoV-2.....	32
Εικόνα 6: Τα πέντε στάδια του κύκλου ζωής του SARS-CoV-2.....	34
Εικόνα 7: Δομικές πρωτεΐνες του SARS-CoV-2.....	35
Εικόνα 8: Μέτρα προστασίας για τον COVID-19.....	45
Εικόνα 9: Λήψη ρινοφαρυγγικού για ανίχνευση SARS-CoV-2.....	47
Εικόνα 10: Συλλογή ρινοφαρυγγικών επιχρισμάτων, περαιτέρω διαχείριση του δείγματος.....	48
Εικόνα 11 : Σύνοψη των παγκόσμιων προσπαθειών παρακολούθησης λυμάτων SARS-CoV-2 από ερευνητές.....	58
Εικόνα 12 : Επιτήρηση λυμάτων.....	66

## Ακρωνύμια

M.E.Λ.:	Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων
RNA:	Ριβονουκλεϊκό οξύ
SARS:	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
CoVs:	Κορωνοϊοί
ΠΟΥ:	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
ACE2:	Μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτενσίνης 2
DPP4 :	Διπεπτιδυλ-πεπτιδάση 4
TMPRSS2 :	Κυτταρική πρωτεάση σερίνης
RAAS:	Σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης
ΕΟΔΥ :	Εθνικός οργανισμός δημόσιας
GISAID :	Παγκόσμια Πρωτοβουλία για την Κοινή χρήση όλων των Δεδομένων Γρίπης
NIBSC :	Εθνικό Ινστιτούτο Βιολογικών Προτύπων και Ελέγχου
IS :	Διεθνούς προτύπου
SCORE:	Sewage Analysis Core group Europe
HERA:	Γραφείου Ετοιμότητας για την Υγεία Έκτακτης Ανάγκης
ΕΥΔΑΠ:	Εταιρεία Ύδρευσης και Αποχέτευσης Αθηνών
WBE:	Επιδημιολογία με βάση τα λύματα (Wastewater Based Epidemiology)
EMA:	Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (European Medicine Association)

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τον Δεκέμβριο του 2019 έκανε την εμφάνιση του στην επαρχία Wuhan της Κίνας ο SARS-CoV-2 ή Covid19 φέρνοντας την ανθρωπότητα αντιμέτωπη με μια πανδημία.

Ο ιός SARS-CoV-2 ή Covid19 πήρέ το όνομα του, λόγο της συμπτωματολογίας που ακολουθεί μετά την έκθεση σε αυτόν, σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2). Ανήκει στην οικογένεια των κορονωϊών. Η μετάδοση του γίνεται με άμεση ή έμμεση επαφή με άτομα τα οποία μεταφέρουν τον ιό, δια μέσω αναπνευστικών σωματιδίων. Ο ιός προσβάλλει εκτός του αναπνευστικού συστήματος και τον γαστρεντερικό σωλήνα προκαλώντας σε ένα υψηλό ποσοστό διάρροιες και εμέτους στους φορείς του.

Παγκόσμια γίνεται μια προσπάθεια αντιμετώπισης της πανδημίας, περιορισμού αλλά και διερεύνησης της μετάδοσης του ιού και περαιτέρω κατανόησης του, από την επιστημονική κοινότητα. Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες και έρευνες που σχετίζονται με τον SARS-CoV-2μέχρι σήμερα.

Χρησιμοποιώντας ακτινολογικά ευρήματα αλλά και εργαστηριακά δείγματα φαρυγγικού, ούρων και κοπράνων παρακολουθείτε η εξέλιξη και οι επιπτώσεις που έχει ο άνθρωπος από τον ιό και η πορεία της μετάδοσης του.

Η παρουσία ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA) του SARS-CoV-2 σε δείγματα κοπράνων, ασθενών προσυμπτωματικών, ασυμπτωματικών αλλά και ήπια συμπτωματικών, επιβεβαιώθηκε σε πολυάριθμες μελέτες ξεκινώντας μια προσπάθεια παγκόσμιος παρακολούθησης των λυμάτων, ιδιαίτερα των μεγάλων αστικών κέντρων.

Τα περιπτώματα ενεργών φορέων συμπτωματικών και ασυμπτωματικών, όπως και σάλιο, επιχρίσματα ή και πτύελα μεταφέρουν ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA) SARS-CoV-2, καταλήγοντας δια μέσω του αποχετευτικού συστήματος στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (Ε.Ε.Λ.), ενώ θεωρούνται αντιπροσωπευτικά της παρακολούθησης μεγάλου όγκου πληθυσμού που κατοικεί στην συγκεκριμένη λεκάνη απορροής.

Οι μετρήσεις στα λύματα έχουν ενταθεί λόγο του επιδημιολογικού ενδιαφέροντος που παρουσιάζουν από το πρώτο lock down έως και σήμερα, ενώ αποτελεί πολύτιμο εργαλείο έγκαιρης διάγνωσης και παρακολούθησης της διασποράς του ιού και του μεγέθους του ιικού φορτίου στην κοινότητα .

Σκοπό της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η συσχέτιση των καταγεγραμμένων κρουσμάτων με τα ποσοστά μεταβολής του ιικού φορτίου των μετρήσεων των λυμάτων συλλέγοντας τις πληροφορίες που δίνονται στις Ημερήσιες Εκθέσεις Επιδημιολογικής Επιτήρησης λοίμωξης από τον νέο κορωνοϊό (Covid 19) από τον ΕΟΔΥ καθώς και η απόκτηση γνώσεων για την ανάλυση και ερμηνεία των δεδομένων.



Συγκεκριμένα γίνεται χρήση των στοιχείων του Πίνακα 2 των ημερησίων εκθέσεων όπου γίνεται αναφορά στο ημερήσιο αριθμό και κρούσματα ανά 100.000 πληθυσμού επιβεβαιωμένων εγχώριων κρουσμάτων Covid 19 ανά περιφερειακή ενότητα της χώρας. Όπως επίσης και του πίνακα 1 των ημερησίων εκθέσεων όπου αναφέρεται η ποσοστιαία εβδομαδιαία μεταβολή στην μέση συγκέντρωση του ιικού φορτίου SARS-CoV-2 στα αστικά λύματα ανά 100.000 κατοίκους.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΚΟΡΩΝΟΙΩΝ (CoVs)

### 1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι κορωνοϊοί (CoVs) είναι οικογένειες ιών που μπορούν να επηρεάσουν τους ανθρώπους και άλλα ζωντανά πλάσματα. Στους ανθρώπους προκαλούν ήπιες έως μέτριες μολύνσεις της αναπνευστικής οδού. Συναντώνται ευρέως σε ανθρώπους και άλλα θηλαστικά και πτηνά προκαλώντας αναπνευστικές, εντερικές, ηπατικές και νευρολογικές παθήσεις και είναι ιδιαίτερα θανατηφόροι.

Για τους κορωνοϊούς (CoVs) η βάση μετάδοσης τους αποτελούν τα ζώα. Αποκαλούνταν ζωνοόσοι προερχόμενες από χιμπατζήδες, πτηνά, νυχτερίδες ή καμήλες έως την εμφάνιση του SARS-CoV στον άνθρωπο το 2003. Η εμφάνισή του SARS-CoV το 2003 επικύρωσε και μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο εκτός από τη μετάδοση από ζώο σε άνθρωπο. Η μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο ακολουθήθηκε και στις τελευταίες πανδημίες που έχουν κηρυχθεί στην ανθρωπότητα αυτή του SARS-CoV-2 και MERS-CoV (Nihala Nas. et al, 2021).

Η μετάδοση των κορωνοϊών (CoVs) οφείλεται κυρίως στα σταγονίδια που μεταφέρονται με το σάλιο, τον βήχα και το φτέρνισμα. Προκαλούν από κοινό κρυολόγημα έως σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο.

Οι τελευταίες πανδημίες έχουν διαδοθεί σε όλο τον πλανήτη ενώ οι ασθενείς που μολύνθηκαν εμφάνισαν Σοβαρό Οξύ Αναπνευστικό Σύνδρομο και σε αυτό αποδίδεται και η ονοματολογία των νόσων SARS-CoV, SARS-CoV-2 και MERS-CoV.

Οι CoVs έχουν ιδιαίτερες ικανότητες προσαρμογής σε νέα συνθήκες μέσω αλλαγής που οφείλονται στην ευκολία ανασυνδυασμού του γονιδιώματός τους. Στην ικανότητα τους αυτή οφείλεται το γεγονός ότι μπορούν να επηρεάσουν νέους ξενιστές και ιστούς. Οι CoVs που επηρεάζουν ορισμένα ήδη ζώων μπορούν να παράξουν νέα στελέχη και να διασχίσουν ανθρώπινους ξενιστές και να μεταδοθούν από άνθρωπο σε άνθρωπο. Οι έως τώρα μόλυνσης CoVs σε ανθρώπους αποτελούσαν αναίμακτες μεταφορές με εκδηλώσεις ήπιες όπως το κοινό κρυολόγημα. Γι αυτό τον λόγο η δημιουργία και χρήση εμβολίου για πρόληψη των συγκεκριμένων νόσων δεν είχε εξασφαλιστεί (Nihala Nas et al, 2021).

Στους ανθρώπους, οι λοιμώξεις από κορωνοϊό συνοδεύονταν από ήπια συμπτωματολογία ή μπορεί να όσοι είχαν κολλήσει να ήταν και ασυμπτωματικοί. Η συμπτωματολογία σε ανθρώπους που είχαν κολλήσει κορωνοϊό συνοδεύονταν από πυρετό, βήχα, δύσπνοια και γαστρεντερικό ερεθισμό ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις,

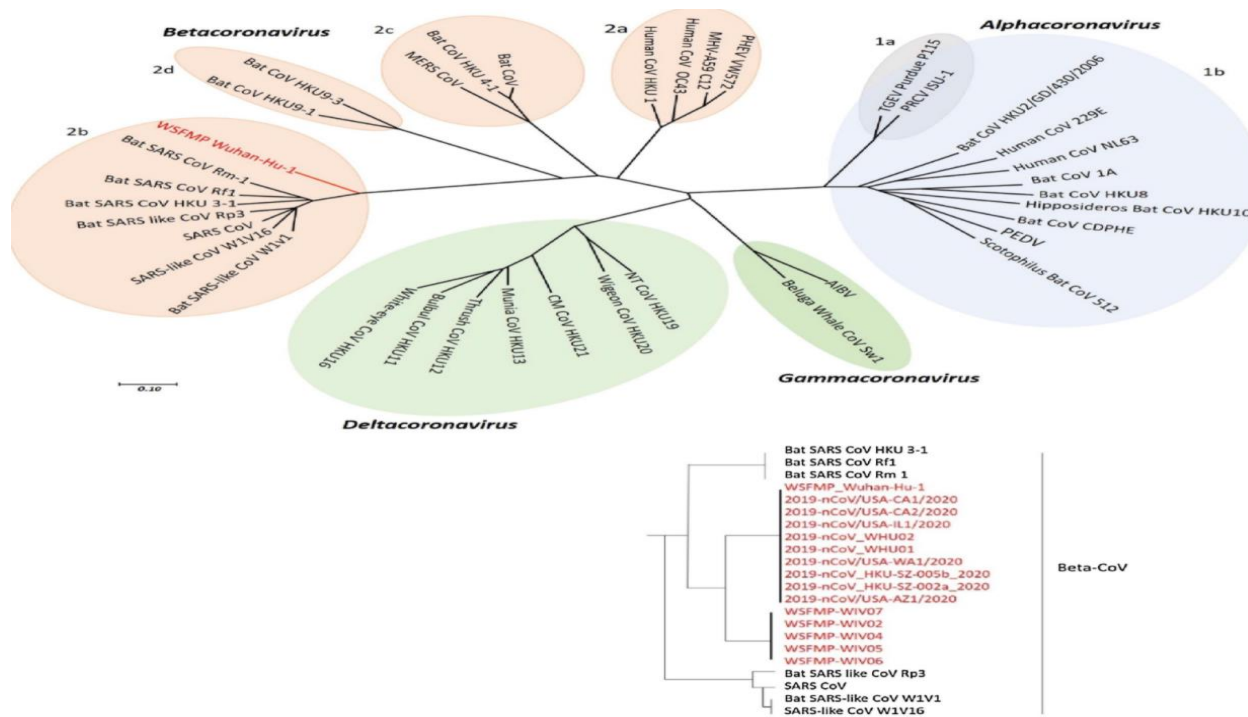
όπως σε ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένα άτομα, μπορεί να οδηγήσουν σε σοβαρότερες λοιμώξεις του αναπνευστικού.

Η εμφάνιση του SARS-CoV και MERS-CoV SARS-CoV-2 και απέδειξε ότι έχουν την δυναμικότητα να προκαλέσουν σοβαρή λοίμωξη της κατώτερης αναπνευστικής οδού.

## 1.2 Φυλογενετική κατάταξη

Οι κορωνοϊοί (CoVs) είναι RNA ιοί με θετικό περίβλημα διαθέτουν τα μεγαλύτερα RNA γονιδιώματα που είναι γνωστά σήμερα, αποτελούν μια μεγάλη ομάδα ιών που ανήκει στην τάξη Nidovirales, η οποία περιλαμβάνει τις οικογένειες Coronaviridae, Arteriviridae, Mesoniviridae και Roniviridae. Η οικογένεια Coronavirinae αποτελείται από τις δύο υποοικογένειες των Coronavirinae και Torovirinae. Η υποοικογένεια Coronavirinae υποδιαιρείται περαιτέρω σε τέσσερα γένη, τα γένη άλφα, βήτα, γάμμα, και δέλτα κορωνοϊών. Οι κορωνοϊοί άλφα και βήτα μολύνουν διάφορα είδη θηλαστικών, οι κορωνοϊοί γάμμα μολύνουν πτηνά και οι κορωνοϊοί δέλτα μολύνουν θηλαστικά και πτηνά (M.A. Shereenb, et all, 2020, D.Rahma Turista, and all, May, 2020, M. Shereenb et. al, 2020).

Στην παρακάτω εικόνα 1 παρουσιάζεται το νέο φυλογενετικό δέντρο όλων των ομάδων των κορωνοϊών με προστιθέμενό τον νέο κορωνοϊό SARS-CoV-2 όπου παρουσιάζεται με κόκκινο χρώμα στην φυλογενετική κατανομή των CoVs.



Εικόνα 1: Φυλογενετικό δέντρο κορωνοϊών το προστιθέμενο νέο μέλος SARS-CoV-2 (M. Shereenb et. al, 2020).

Οι κορωνοϊοί οι οποίοι έχουν προκαλέσει μόλυνση στον ανθρώπινο οργανισμό έχουν διαχωριστεί στις ακόλουθες ομάδες φυλογενετικά όπως αναφέρεται παραπάνω στην φυλογενετική κατάταξη των CoVs:

- Στους **αCoV** όπου ανήκουν οι HCoV-229E και HKU-NL63.
- Και στους **βCoV** στην ομάδα των οποίων συμπεριλαμβάνονται οι HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV και SARS-CoV-2.

### 1.3 Ιστορική αναδρομή

Τα τελευταία 70 χρόνια ερευνητές ανακάλυψαν ότι οι κορωνοϊοί μολύνουν θηλαστικά και πτηνά, όπως νυχτερίδα, ποντικούς, χοίρους, σκύλους, βοοειδή, κοτόπουλα, άλογα, καθώς και ανθρώπους, μπορεί να προκαλέσουν διάφορες ασθένειες, όπως γαστρεντερίτιδα και λοίμωξη του αναπνευστικού (Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Η πρώτη αναφορά για κορωνοϊό έγινε το 1931 από τους Schalk and Hawn και αφορούσε την αναπνευστική ασθένεια πουλιών η οποία ταυτοποιήθηκε το 1937 από τους Beaudette και Hundson και αναγνωρίστηκε ως ένας ιός λοιμώδους βρογχίτιδας των πτηνών (IBV) (Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Το 1965 σε ένα αγόρι με κρουολόγημα οι Tyrrell και Bynoe, εντόπισαν έναν ιό ο οποίος ήταν διαφορετικός από τους ήδη γνωστούς ιούς ( ιός γρίπης, παραγρίπης, Αδενοϊός), που προκαλούσαν τέτοια συμπτώματα. Η ερευνά έκανε γνώση την παρουσία ενός ιού που ονομάστηκε B814 και τα σωματίδια του με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μοιάζουν με εκείνα του IBV (Tyrrell & Bynoe, 1965, Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Την ίδια χρονιά ερευνητές οι Hamre και Procknow χρησιμοποιώντας πέντε παθογόνα από φοιτητές της Ιατρικής οι οποίοι εμφάνιζαν συμπτώματα κοινού κρουολογήματος. Τα παθογόνα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για την επιμόλυνση ανθρώπινου εμβρυϊκού νεφρού με επιτυχία και το στέλεχος κορωνοϊού που βρέθηκε ονομάστηκε 229E. Αυτή η τεχνική εντοπισμού άλλων στελεχών κορωνοϊού χρησιμοποιώντας οργανικές καλλιέργειες OC (Organ Culture) χρησιμοποιήθηκε και από άλλους ερευνητές με την ανίχνευση άλλων έξι κορωνοϊών (Hamre & Procknow, 1966, Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Το στέλεχος OC43 πήρε το όνομα του από τα αρχικά των λέξεων οργανική καλλιέργεια OC, χαρακτηρίζεται ως κοινός ανθρώπινος κορωνοϊό και καλλιεργήθηκε σε 42 φορές σε συνεχείς κυτταρικές καλλιέργειες (Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Οι Almeida και Tyrrell ήταν αυτοί που εντόπισαν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των πρώτων κορωνοϊών είναι παρόμοια και λόγω του περιβλήματος που μοιάζει με στέμμα τους ονόμασαν corona (Almeida , Tyrrell 1967, Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Μέχρι το 2002, η μόλυνση από CoVs θεωρούνταν ως μια γενικά ήπια και μη θανατηφόρα λοίμωξη.

Τον Μάρτιο του 2003 παρουσιάστηκε ένας νέος και ιδιαίτερα επικίνδυνος ιός που ανήκει στην οικογένεια των κορωνοϊών. Ονομάστηκε SARS-CoV από τα αρχικά των λέξεων Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS. Ο ιός αυτός απέδειξε ότι οι κορωνοϊοί δεν πρέπει να θεωρούνται ακίνδυνοι και χρήσουν περαιτέρω έρευνας. Προκαλώντας σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο εξαπλώθηκε μέσα σε έξι μήνες σε 29 χώρες. Αναλυτικότερα στοιχεία για τον SARS-CoV αναφέρονται παρακάτω (WHO, 2003, Zhong et al, 2003, Peiris DPhil et, al, 2003, Nihala, et al, 2021).

Το 2004 εμφανίστηκε στο Άμστερνταμ της Ολλανδίας ο NL63, ένα στέλεχος που απομονώθηκε από ρινοφαρυγγικό επίχρισμα βρέφους με συμπτώματα πυρετού, επιπεφυκίτιδας, καταρροή και βρογχολίτιδας. Η φυλογενετική ανάλυση του ιού έδειξε ομοιότητα με τους άλλους κορωνοϊούς. Το συγκεκριμένο στέλεχος ανιχνεύεται σε όλο τον κόσμο τους χειμερινούς μήνες (Lia Van Der Hoek, 2007, Maier, Bickerton & Britton).

Το 2005 απομονώθηκε στο Χονγκ Κονγκ το στέλεχος HKU1 σε ρινοφαρυγγικό επίχρισμα ενηλίκων που παρουσίασαν έντονη λοίμωξη του αναπνευστικού και πνευμονία. Ανήκει στην οικογένεια των Coronaviridae και παρουσιάζει παγκόσμια εξάπλωση (Lia Van Der Hoek First, 2007, Maier, Bickerton & Britton).

Το 2013 ο ιός MERS-CoV έκανε την εμφάνιση του. Ο MERS πήρέ το όνομά του λόγω του γεωγραφικού εντοπισμού του Middle East Respiratory Syndrome coronavirus. Το πρώτο κρούσμα του ήταν ένας 60 χρόνος, ο οποίος και κατέληξε από την λοίμωξη από τον ιό, εμφάνισε σοβαρής πνευμονίας και νεφρικής ανεπάρκειας στην Σαουδική Αραβία.

Ο MERS-CoV εξαπλώθηκε στην Αραβική χερσόνησο προκαλώντας σοβαρό αναπνευστικό σύνδρομο στους ανθρώπους που μολύνονται από τον ιό. Περαιτέρω στοιχεία για τον MERS-CoV βρίσκονται παρακάτω (Nihala, et al, 2021, Ramadan & Shaib, 2019, WHO, 2019, Maier, Bickerton & Britton).

Τέλος το νέο στέλεχος του κορωνοϊού που απασχολεί τα τελευταία δυο χρόνια την ανθρωπότητα ονομάστηκε SARS-CoV-2. Εντοπίστηκε τον Δεκέμβριο του 2019 σε μία αγορά θαλασσιών στην πολύ Wuhan της Κίνας. Ασθενείς από την συγκεκριμένη αγορά απευθύνονται στα νοσοκομεία της πόλης με σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο, ο ιός απομονώνεται και ανακαλύπτεται ότι το νέο στέλεχος ανήκει στην οικογένεια των κορωνοϊών. Στην περίπτωση του νέου κορωνοϊού η εξάπλωση ήταν πολύ γρήγορη και κάλυψε όλα τα μήκη του πλανήτη.

Μέχρι στιγμής, έχουν εντοπιστεί 7 είδη ανθρώπινοι κορωνοϊοί, συμπεριλαμβανομένων των OC43, 229E, NL63, HKU1, SARS-CoV και MERS-CoV και SARS-CoV-2 .

#### **1.4 Δομή Χαρακτηριστικά και Ιδιότητες Κορωνοϊών (CoVs)**

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά και ιδιότητες των κορωνοϊών οφείλονται στην δομή του ιοσωματίου τους και αναφέρονται επιγραμματικά παρακάτω:

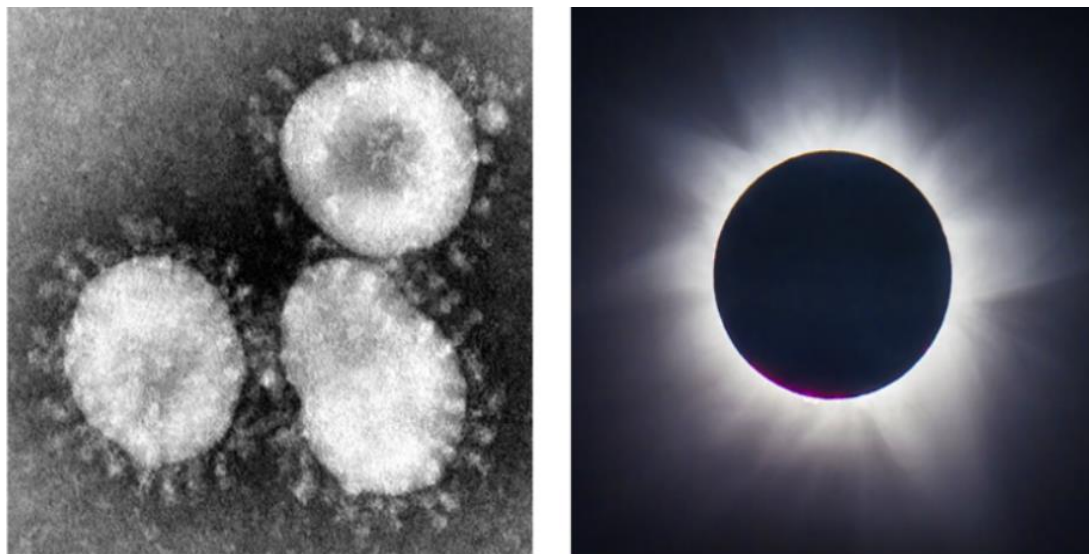
1. Αποτελούν ιούς που προσβάλλουν κυρίως το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα και την γαστρεντερική οδό.
2. Είναι ιοί με περίβλημα (enveloped) που φέρουν ως γονιδίωμα ένα μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας.
3. Το ισωμάτιο τους ποικίλει σχηματικά σε σφαιρικό μεγέθους 80 έως 220 nm (κορωνοϊοί), ή σχήμα δίσκου, νεφρού ή ράβδου μεγέθους 120 έως 140 nm (τοροϊοί).
4. Παρουσιάζουν σωληνοειδές νουκλεοκαψίδιο με ελικοειδή συμμετρία.
5. Χαρακτηρίζονται από το εξαιρετικά μεγάλο γονιδίωμα (το μεγαλύτερο μεταξύ των RNA ιών). Το γραμμικό γονιδίωμα ssRNA τους να φτάνει από 27.000-33.000 βάσης ή (kb).
6. Χαρακτηριστικό του γωνιδιώματος τους αποτελούν τα δύο άκρα 3' και άκρο 5' αμετάφραστες περιοχές (open reading frames ORFs).
7. Τα 2/3 του μήκους του γωνιδιώματος τους, από το άκρο 5' καλυπτεται από τις δύο αμετάφραστες περιοχές (open reading frames ORFs) τα ORF1a ORF1b τα όποια κωδικοποιούν το σύμπλεγμα RNA – RNA εξαρτώμενης πολυμεράσης.
8. Κωδικοποιούν τουλάχιστον έξι κύρια ORF.
9. Τα ORF αποτελούνται συνήθως από τις ακόλουθες δομικές πρωτεΐνες: την φωσφορυλιωμένη νουκλεοπρωτεΐνη (N), γλυκοπρωτεΐνη ακίδα (S) που βρίσκεται στο περίβλημα του ιού, την διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη (M), την δευτερεύουσα διαμεμβρανική πρωτεΐνη (E). Ορισμένοι κορωνοϊοί περιέχουν μια επιπλέον πρωτεΐνη φακέλου με λειτουργίες αιμοσυγκόλλησης την αιμοσυγκολλητίνη (H) ή αιμοσυγκολλητίνη-εστεράση (HE) και επίσης ορισμένες μεταβλητές βοηθητικές πρωτεΐνες. Αυτές κωδικοποιούνται στο 3' άκρο του γωνιδιώματος του ιού.
10. Το γονιδίωμα τους κωδικοποιεί 3 έως 10 περίπου περαιτέρω μη δομικές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένης της RNA πολυμεράσης που αποτελείται από υπομονάδες που διασπώνται από δύο πολυπρωτεΐνες που μεταφράζονται από το άκρο 5'.
11. Αντιγράφονται στο κυτταρόπλασμα.
12. Τα ισωμάτια αναπτύσσονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και τα σωμάτια Golgi, ακολουθώντας η απελευθέρωση τους με εξωκυττάρωση.
13. Είναι ιοί που μεταλλάσσονται με ευκολία χάρις στην δομή τους.
14. Το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό των κορωνοϊών είναι η πρωτεΐνη ακίδα S που απαντάται στην επιφάνεια του ιού.  
(C.Walls et al, 2020, Beeckmans & Driessche, Burrell, Howard & Murphy, 2016, Maier, Bickerton & Britton, Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Η γλυκοπρωτεΐνη ακίδα S, σχηματίζει ομοτριμερή που προεξέχουν από την επιφάνεια του ιού. Στην ομοτριμερή μορφή, όπου παρατηρείται και στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, απέδωσαν οι επιστήμονες το όνομα του ιού, corona από την λατινική λέξη όπου μεταφράζεται ως φωτοστέφανο. Η ονοματολογία δόθηκε λόγω των αιχμών που εμφανίζει η πρωτεΐνη ακίδας S την οποία οι ερευνητές που την παρατήρησαν την

απέδωσαν στο φωτισμένο που παρατηρείται γύρω από τον ήλιο κατά την διάρκεια μιας έκλειψης.

Στους περισσότερους κορωνοϊούς, η πρωτεΐνη ακίδα S διασπάται από μια πρωτεάση τύπου φουρίνης του κυττάρου ξενιστή σε δύο ξεχωριστά πολυπεπτίδια τις υπομονάδες S1 και S2. Η υπομονάδα S1 είναι υπεύθυνη για την σύνδεση με τα κύτταρα ξενιστών και η υπομονάδα S2 είναι υπεύθυνη για την σύντηξη των ιικών και κυτταρικών μεμβρανών (Burrell, Howard & Murphy, 2016, Maier, Bickerton & Britton, Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Στην εικόνα 2 που ακολουθεί γίνεται σύγκριση της μορφολογίας των κορωνοϊών που παρατηρούνται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, με την ηλιακή έκλειψη, από όπου και πήραν οι κορωνοϊοί το όνομά τους, από το στέμμα που δημιουργείτε κατά την διάρκεια του φαινομένου.



Εικόνα 2: Μορφολογία κορωνοϊού στην ηλεκτρονική μικροσκόπηση σε σύγκριση με την έκλειψη ηλίου και την ονοματοδοσία του ιού <https://www.cebm.net/covid-19/coronaviruses-a-general-introduction/>

### 1.5 Συμπτωματολογία κορωνοϊών

Οι ανθρώπινοι κορωνοϊοί (HCoV-OC43 και HCoV-229E), που εντοπίστηκαν τον προηγούμενο αιώνα δεν αποτέλεσαν απειλή για την ανθρώπινη ζωή. Προκαλούσαν ήπια συνήθως συμπτωματολογία με χαρακτηριστικό τους σύμπτωμα στους ανθρώπους

να εκδηλώνεται το κοινό κρουσολόγημα όπως έχει προαναφερθεί (Jeffrey K Aronson March 25, 2020, Maier, Bickerton & Britton, Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Ακολούθησαν οι NL63 και HKU1 οι οποίοι προκαλούν ήπια λοίμωξη του ανώτερου αναπνευστικού σε υγιή άτομα και λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος σε ανοσοκατεσταλμένους ή ηλικιωμένους, σε μικρά παιδιά και ενήλικες με υποκείμενα νοσήματα (Jeffrey K Aronson March 25, 2020, Maier, Bickerton & Britton, Jeffrey K Aronson March 25, 2020).

Ο αιώνας που διανύουμε έχει χαρακτηριστεί από την εμφάνιση τριών άγνωστων έως τώρα στην ανθρωπότητα κορωνοϊών προκαλώντας επιδημίες. Ο SARS-CoV και ο MERS-CoV Sars και SARS-CoV-2 ή Covid 19 αποτελούν τις νόσους του 21 αιώνα. Μπορεί να προκαλέσουν σοβαρή λοίμωξη της αναπνευστικής οδού. Αναλυτικότερα στοιχεία για την συμπτωματολογία τους παρατίθενται παρακάτω (Burrell, Howard & Murphy, 2016).

### **1.5.1 Sars CoV**

Η αρχή έγινε το Φεβρουάριο του 2003 στην επαρχία Γκουανγκντόνγκ της Κίνας με την εμφάνιση του Sars CoV (του Σοβαρού Οξέος Αναπνευστικού Συνδρόμου του κορωνοϊού), προσβάλλοντας τις πνευμονικές κυψελίδες. Σε αυτόν εκτέθηκαν πάνω από 8000 άνθρωποι, ενώ πέθαναν 776 εξ αυτών με τα ποσοστά θνησιμότητας του να αγγίζουν το 11%. Ο ιός μεταδόθηκε σε άλλες 4 χώρες. Ο Sars CoV είναι αερομεταφερόμενος και μπορεί να εξαπλωθεί μέσω μικρών σταγονιδίων σάλιου με παρόμοιο τρόπο με το κρουσολόγημα και τη γρίπη. Η επαφή με μολυσμένες επιφάνειες είναι ένας άλλος τρόπος μετάδοσης του ιού καθώς ενώ έχει παρατηρηθεί και η διεθνής μετάδοση του μέσω αεροπορικών ταξιδιών (Burrell, Howard & Murphy, 2016, Zhong, et al, 2003, P. DPHIL, et , all, 2003, WHO, 2003).

Ο χρόνος επώασης του Sars CoV είναι 3-7 ημέρες, με εμφάνιση πυρετού ως πρώτο σύμπτωμα του ιού >38, εμφάνιση ξηρού βήχα (μη παραγωγικού) ενώ μπορεί να παρατηρηθεί ακόμη και δύσπνοια και υποξαιμία. Παράλληλα μπορεί να αναφερθούν συμπτώματα όπως ρίγη, πονοκέφαλος, μυϊκοί πόνοι. Σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ. σε ένα ποσοστό 10-20% παρατηρείται σοβαρή συμπτωματολογία με τις περιπτώσεις αυτές να καταλήγουν στις υγειονομικές δομές για διασωλήνωση και μηχανική αναπνευστική υποστήριξη (P. DPHIL, et all, 2003, WHO, 2003).

### **1.5.2 MERS CoV**

Το 2012 στην Ιορδανία εμφανίστηκε ο MERS CoV προκαλώντας το αναπνευστικό σύνδρομο της Μέσης Ανατολής. Ο Mers είναι γνωστό ότι μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω άμεσης ή έμμεσης επαφής με μολυσμένες καμήλες dromedary ενώ το ποσοστό θνησιμότητας του αγγίζει το 35%. Ο ιός εξαπλώθηκε συνολικά σε 27 χώρες και



αφαίρεσε την ζωή σε 858 γνωστές περιπτώσεις μολύνσεων (Ramadan & Shaib, 2019, WHO, 2012).

Η μετάδοση του MERS CoV έχει αποδοθεί στην κατανάλωση γάλακτος καμήλας το οποίο δεν έχει υποστεί κάποια επεξεργασία αποστείρωσης ή με την κατανάλωση του κρέατος της. Οι αναφορές μετάδοσης από άνθρωπο σε άνθρωπο αποδίδονται σε επαφή με σταγονίδια που μεταφέρουν από βήχα, φτέρνισμα, σάλιο (Ramadan & Shaib, 2019, WHO, 2012).

Ο χρόνος επώασης του ιού MERS CoV συμφωνά με τον Π.Ο.Υ. είναι 2-10 ημέρες με τους ανθρώπους που έχουν κολλήσει να εκδηλώνουν πυρετό, βήχα, δύσπνοια, καταρροή, πονοκέφαλο, μυαλγίες και η συμπτωματολογία σε σοβαρές περιπτώσεις της νόσου αφορά κοιλιακό άλγος με την συνοδεία έντονων γαστρεντερικών εκδηλώσεων όπως ναυτία, έμετος και διάρροια (Ramadan & Shaib, 2019, WHO, 2012).

Οι ασθενείς με MERS εμφανίζουν σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο και πολυοργανική κατάρρευση οδηγώντας σε θάνατο 12 ημέρες μετά την εκδήλωση της νόσου. Τα άτομα που διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο είναι: οι ανοσοκατεσταλμένοι, οι χρόνια νοσούντες, οι διαβητικοί, τα άτομα με νεφρική ανεπάρκεια, σε ένα ποσοστό 50% έχει αναφερθεί οξεία νεφρική βλάβη από την έκθεση στον ιό. Όποτε τα άτομα με νεφρικές βλάβες έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην έκθεση με τον MERS CoV (Ramadan & Shaib, 2019, WHO, 2012).

### **1.5.3 SARS-CoV-2 ή Covid 19**

Πριν από 2 χρονιά στο τέλος του 2019, όλος ο πλανήτης ήρθε αντιμέτωπος με έναν νέο ιό ο οποίος δοκιμάζει τα συστήματα υγείας. Ο ιός SARS-CoV-2 ή Covid 19 προκαλεί οξύ αναπνευστικό σύνδρομο στα θύματα του επηρεάζοντας όχι μόνο την δημόσια υγεία αλλά και την παγκοσμία οικονομία, καθώς ο μετριασμός της εξάπλωσης του ιού έχει αναγκάσει τον περιορισμό όλων των ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Από την αρχή της εμφάνισης του θεωρήθηκε ιδιαίτερα θανατηφόρος συμφωνά με τα στοιχεία του ΠΟΥ έως τώρα έχουν καταγραφεί πάνω από 300.000.000 επιβεβαιωμένα κρούσματα ενώ έχουν χάσει την ζωή τους μετά την μόλυνση από αυτόν περισσότεροι από 5.500.000 άνθρωποι ανά τον κόσμο (WHO, 2020).

### **1.6 Ξενιστές, Δεξαμενές κορωνοϊών και Συγκρίσεις μεταξύ τους**

Η προέλευση του ιού και η μετάδοση του αποτελεί το κλειδί ελέγχου της επιδημίας η πανδημίας. Η προέλευση του είναι πολύ σημαντική ώστε να αναπτυχθούν στρατηγικές για τον περιορισμό και την εξάλειψη της μόλυνσης.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι κορωνοϊοί (CoVs) αποτελούν ζωνόσους προερχόμενες από χιμπατζήδες, πτηνά, νυχτερίδες ή καμήλες. Η μετάδοση τους γίνεται από ζώο σε άνθρωπο και από άνθρωπο σε άνθρωπο.

Ο Sars CoV επιβεβαιώθηκε ως ζωνοσός με κύριο ξενιστή τις νυχτερίδες. Ενδιάμεση δεξαμενή αποτελεί ο Θηβητιανός φοίνικας Ιμαλαΐων (μασκοφόρος φοίνικας) ένα μοναδικό ζώο, σπάνιο και προστατευόμενο ως είδος. Το συγκεκριμένο καταναλώνεται ως γεύμα από τους ανθρώπους σε περιοχές της Κίνας και του Βιετνάμ.

Ο MERS-CoV οφείλεται στις καμήλες Dromedary οι οποίες αποτελούν την πηγή της μετάδοσης του ιού στον άνθρωπο. Το 55% των επιβεβαιωμένων θετικών κρουσμάτων οφειλόταν σε άμεση επαφή με καμήλες ή προϊόντα που σχετίζονται με τις καμήλες (P. Asrani, etc.2020, Zhang & Holmes, 2020, WHO 2012).

Ο SARS-CoV-2 αποτελεί την τρίτη απειλή έως τώρα από την ομάδα των κορωνοϊών. Η έρευνες για τον συγκεκριμένο κορωνοϊό είναι εν εξέλιξη. Θεωρείται ότι προήλθε από νυχτερίδες, αλλά η πηγή μετάδοσης στον άνθρωπο δεν έχει ακόμη επιβεβαιωθεί εάν είναι από νυχτερίδες ή κάποιο άλλο ενδιάμεσο οικοδεσπότη. Έρευνες έδειξαν 96% γονιδιωματική ομοιότητα με τις αλληλουχίες της νυχτερίδας άλλα και με αυτή των παγκολίνων με ποσοστό 85,5-92,4% (P. Asrani, etc.2020, Zhang & Holmes, 2020, WHO 2012).

Έρευνα του 2020 που αφορά την γονιδιακή ανάλυση και προέλευση του SARS-CoV-2 αναφέρει ότι ο ιός της τωρινής πανδημίας σχετίζεται στην συγκριτική γονιδιωματική ανάλυση με αυτό της νυχτερίδα *Rhinolophus affinis* (που μεταφράζεται ως πέταλο) που ελήφθη δείγμα στην επαρχία Yunnan της Κίνας, το 2013. Ο ιός από τις νυχτερίδες *Rhinolophus affinis* ονομάζεται RaTG13, παρουσιάζει ~96% με τον SARS-CoV-2 σε επίπεδο νουκλεοτιδικής αλληλουχίας. Παρά την ομοιότητας τους οι SARS-CoV-2 και RaTG13 διαφέρουν σημαντικά σε κάποια γονιδιακά χαρακτηριστικά. Επίσης παρουσιάζει 79% ομοιότητα στην γονιδιακή του αλληλουχία με τον Sars CoV (Zhang & Holmes, 2020).

Η σύγκριση της γονιδιακής αλληλουχίας του SARS-CoV-2 βοήθησε να γίνει κατανοητή η έκταση της επιδημιολογικής δυναμικής του ιού. Ο SARS-CoV-2 σε σύγκριση και με τον RaTG13, όπου παρατηρείται αυτή η εκπληκτική ομοιότητα διαφέρει στο ότι περιέχει μια πολυβασική (φουρίνη) εισαγωγή θέσης διάσπασης στη διασταύρωση των υπομονάδων S1 και S2 της πρωτεΐνης S. Στην συγκεκριμένη φουρίνη οφείλεται και η εξαιρετική μολυσματικότητα του SARS-CoV-2, ένα χαρακτηριστικό ασυνήθιστο στους βήτα κορωνοϊούς (Zhang & Holmes, 2020).

Στον πίνακα 1 που ακολουθεί αναφέρονται οι διαφορές χαρακτηριστικών σε SARS-CoV, MERS-CoV και SARS-CoV-2. Συγκεκριμένα αναφέρονται η περιοχή που ξεκίνησε η λοίμωξη από τον κάθε έναν από τους τρεις πιο επικίνδυνους κορωνοϊούς, τα ζώα που αποτέλεσαν ξενιστές τους, οι δεξαμενές ή ενδιάμεσοι ξενιστές τους, ο συνολικός αριθμός των μολύνσεων από τον κάθε κορωνοϊό (τα ποσοστά λοίμωξης για τον SARS-CoV-2 όπου αναφέρονται στον πίνακα είναι μέχρι τον Νοέμβριο του 2020) και τα ποσοστά θνησιμότητας τους.

Characteristics	SARS-CoV	MERS-CoV	SARS-CoV-2
Origin of infection	Guangdong in China, 2003	Saudi Arabia, 2012	Wuhan in China, 2019
Hosts	Chinese Horseshoe bats	Pipistrellus and Perimyotis bats	Bats
Reservoir/intermediary host	Himalayan palm civet	Dromedary camels	Pangolins
Total number of infections	>8000	2428	23 million and evolving
Total number of deaths	776	838	0.82 million (as of 26th August 2020)
Fatality rate	>10%	35%	1–4%

Πίνακας 1: Χαρακτηριστικά και Παθογένεση CoVs.

<https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/omi.2020.0131>

Παρότι οι κορωνοϊοί SARS-CoV, MERS-CoV σχετίζονται και τον SARS-CoV-2, χαρακτηρίζονται ως ζωνοόσοι, η σύγκριση μεταξύ τους βγάζει νικητή τον SARS-CoV-2. Τα ποσοστά θνησιμότητας των SARS-CoV, MERS-CoV είναι αρκετά υψηλά παρόλα αυτά η δυναμικότητα της μετάδοσης του SARS-CoV-2, το γεγονός δηλαδή ότι έχει εξαπλωθεί σε όλον τον πλανήτη, αποδεδειγμένα τον έχει αναδείξει ως τον πιο μολυσματικό κορωνοϊό που έχει αντιμετωπίσει έως τώρα η ανθρωπότητα.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

## SARS-CoV-2

### 2.1 Ιστορική αναδρομή SARS-CoV-2

Οι πρώτες αναφορές μιας νέας πνευμονίας με ταχεία εξάπλωση του παθογόνου που την προκαλούσε, έγιναν στην πόλη Wuhan, στην επαρχία Hubei, στην Κίνα, στα τέλη Δεκεμβρίου του 2019 ξεκινώντας έναν αγώνα δρόμου σε υγειονομικούς και την πολιτεία για την προστασία του πληθυσμού. Ένα αερομεταδιδόμενο παθογόνο υψηλής μολυσματικότητας εμφανίστηκε τη μεγαλύτερη ταξιδιωτική περίοδο του έτους: το Κινεζικό Φεστιβάλ Άνοιξης. Η πόλη Wuhan τίθεται σε αυστηρή καραντίνα, ενώ συναγερμός για διασπορά εντός όλης της Κίνας αλλά και του υπόλοιπου πλανήτη έχει σημαίνει. Τον Ιανουάριο του 2020 παρατηρήθηκε η εξαγωγή και εξάπλωση του ιού στην Ταϊλάνδη και την Ιαπωνία. Στις 11 Μαρτίου 2020 ανακηρύσσεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), παγκόσμια πανδημία της νόσου COVID-19 ή SARS-CoV-2 όπως ονομάστηκε περνώντας το όνομα Covid λόγω του ότι ανήκει στην οικογένεια των κορωνοϊών και του έτους 2019 που έκανε την εμφάνιση του.

Στην Ελλάδα, το πρώτο επιβεβαιωμένο κρούσμα COVID-19 καταγράφηκε στην πόλη της Θεσσαλονίκης στις 26 Φεβρουαρίου 2020. Ενώ στις 12 Μαρτίου του 2020 καταγράφηκε κα πρώτος θάνατος ασθενούς στην χώρα μας.

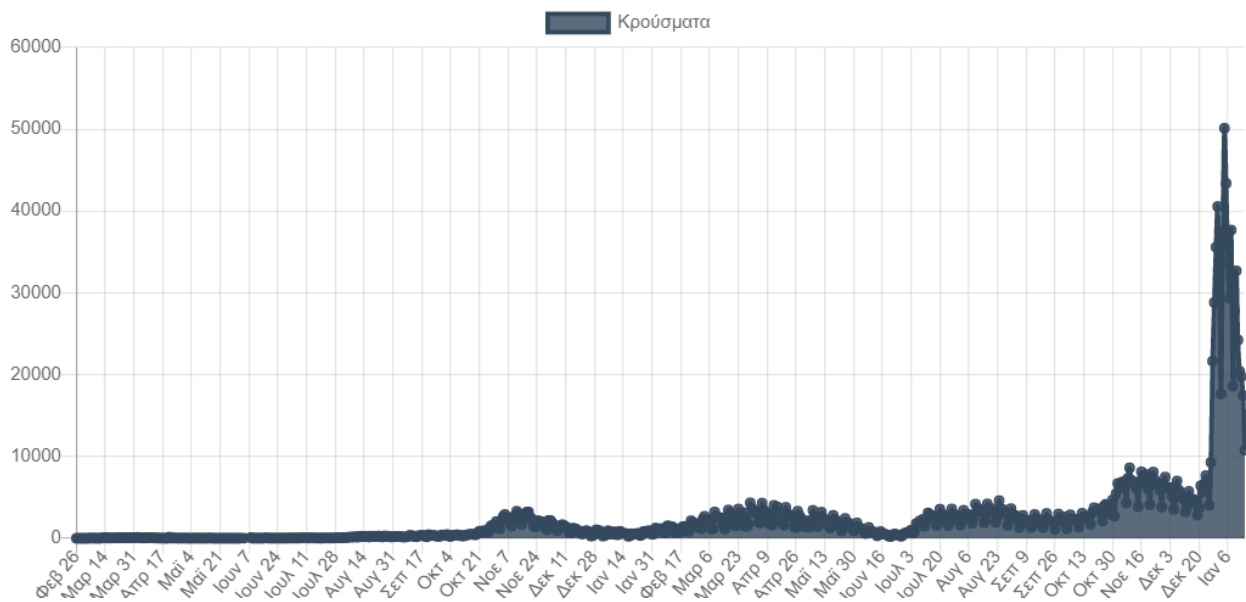
Στις 23 Μαρτίου του 2020, επιβλήθηκε από την Ελληνική κυβέρνηση το πρώτο lockdown της χώρας με τον περιορισμό κυκλοφορίας και μετακίνησης σε ολόκληρη την ελληνική επικράτεια, ως μέτρο περιορισμού της εξέλιξης της πανδημίας. Τα μέτρα περιλάμβαναν ολική απαγόρευση κυκλοφορίας, απαγόρευση συναθροίσεων, κλείσιμο σχολείων, επιβολή τηλεργασίας στις επιχειρήσεις που δύναται κ.α.

Πρώτη φορά στις 11 Μάρτιου του 2020 υπήρξε μαζική ενημέρωση σε όλα τα κινητά τηλέφωνα της χώρας συνοδευόμενο με ηχητικό μήνυμα από την Γενική γραμματεία Πολιτικής Προστασίας για ειδοποίηση έκτακτης ανάγκης. Η αποκλιμάκωση των μέτρων ξεκίνησε στις 4 Μαΐου του 2020.

Το δεύτερο lockdown ανακοινώθηκε στις 5 Νοεμβρίου του 2020 και η έναρξη απαγόρευσης της κυκλοφορίας έγινε το Σάββατο 7 Νοεμβρίου του 2020. Το δεύτερο lockdown τέθηκε σε ισχύ μετά την αύξηση των κρουσμάτων στην χώρα.

Μέχρι τις αρχές του 2022 στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί πάνω από 1.500.000 επιβεβαιωμένα κρούσματα ενώ έχουν χαθεί 21.000 συμπολίτες μας σύμφωνα με τα στοιχεία του ΕΟΔΥ.

Στο διάγραμμα 1 του Π.Ο.Υ. αναφέρεται η εξέλιξη των καταγεγραμμένων κρουσμάτων σε χιλιάδες από την έναρξη της πανδημίας έως την αρχή του 2022.



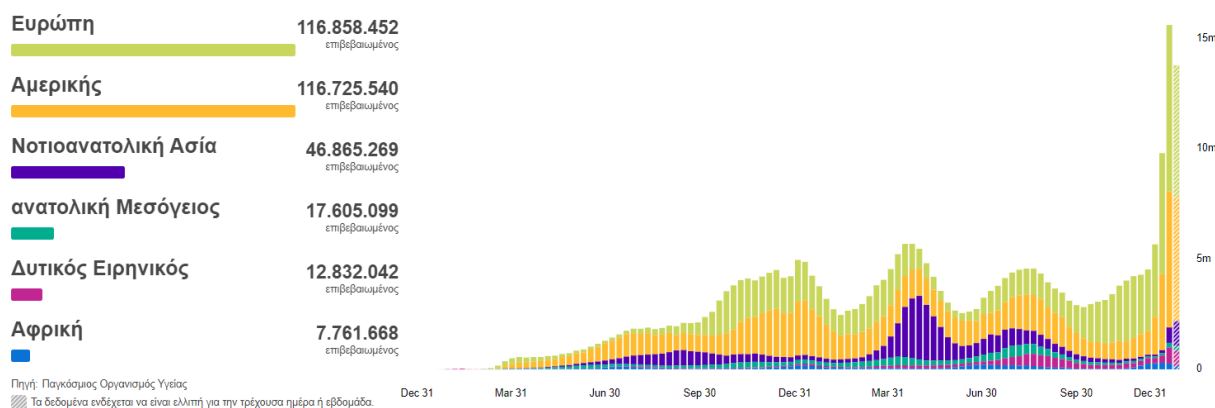
Διάγραμμα 1: Επιβεβαιωμένα κρούσματα SARS-CoV-2 από 2/2020-1/2022 (WHO,2020).

Ενώ παγκόσμιος στις αρχές του Ιανουαρίου του 2022 τα επιβεβαιωμένα κρούσματα ανέρχονται στα 318.648.843 με 5.518.343 θανάτους σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ. (βλέπε εικόνα 3).



Εικόνα 3: Πίνακας ελέγχου καταγεγραμμένων κρουσμάτων και θανάτων του ΠΟΥ από COVID-19 (<https://covid19.who.int/>)

Τα επιβεβαιωμένα κρούσματα στην Ευρώπη την ίδια περίοδο ανέρχονται στα 116.858.452 (βλέπε διάγραμμα 2) στοιχειά λαμβανόμενα από τον Π.Ο.Υ.



Διάγραμμα 2: Επιβεβαιωμένα κρούσματα ανά τον κόσμο (<https://covid19.who.int/>)

## 2.2 Δομή γονιδιώματος SARS-CoV-2

Ο Sars-CoV-2 ή Covid19 αναγνωρίζεται ως το έβδομο σε σειρά μέλος της οικογένειας κορωνοϊών που προσβάλλει τους ανθρώπους. Ανήκει στο γένος betacoronavirus, στην οικογένεια Coronaviridae, στην υποοικογένεια Coronavirineae, στην τάξη nidovirales. Η αναγνώριση της γονιδιακής αλληλουχίας του έγινε τον Ιανουάριο του 2020 (Zhao, et al, 2020, C.Walls et al, 2020, P. Asrani, etc. 2020).

Είναι ένας μονόκλωνος RNA ιός θετικής αίσθησης (+), με σφαιρικό περίγραμμα διαμέτρου 60-140 nm και διακριτές αιχμές μεγέθους 9-12 nm. Έχει γονιδίωμα ~ 30 kilobases (kb) τα οποία κωδικοποιούν περίπου 9860 αμινοξέα (Rauti et. Al, 2021, Zhao, et all, 2020, C.Walls et al, 2020, P. Asrani, etc.2020).

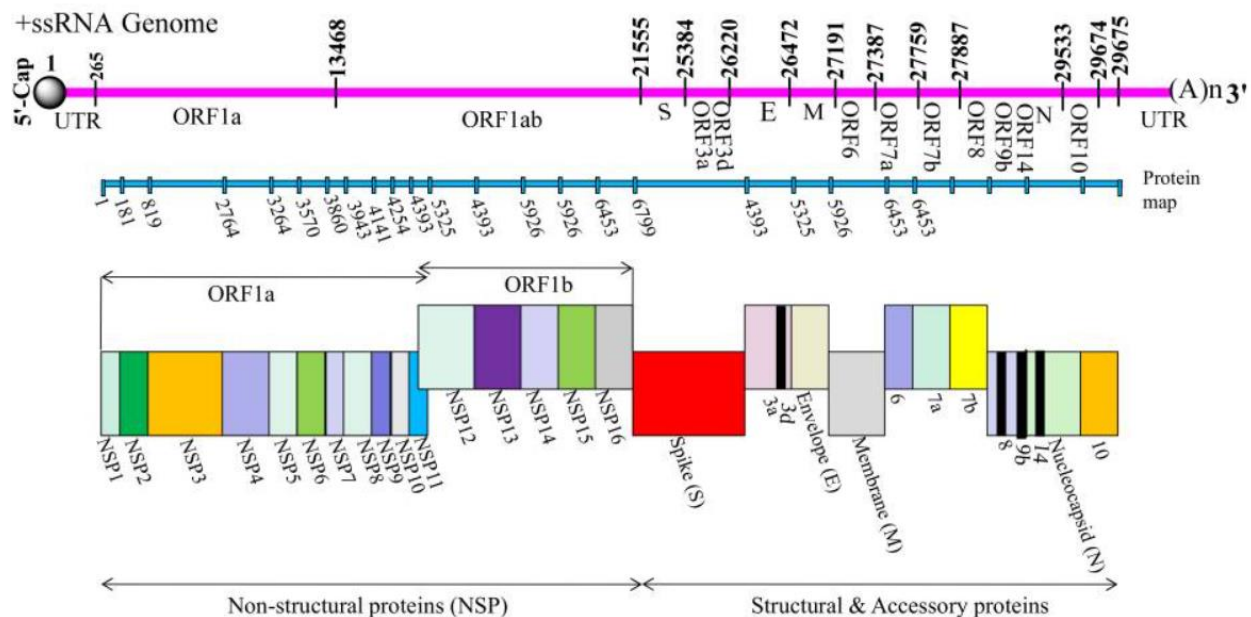
Η γονιδιακή δομή του SARS CoV-2 μοιάζει με των υπολοίπων κορωνοϊών που είναι έως τώρα γνωστοί (Sars CoV & Mers-CoV) και είναι διατεταγμένη με γονιδιακή σειρά 5' ρεπλικάσης (orf1/ab) - ακίδα S- φάκελο E- μεμβράνη M- και νουκλεοκαψίδιο N-3'. Δεν παρουσιάζεται στην συγκεκριμένη γονιδιακή σειρά το γονίδιο αιμοσυγκολλητίνης-εστεράσης (HE), γονίδιο που χαρακτηρίζει άλλους β-CoVs (Rauti et. Al, 2021, Zhao, et all, 2020, C.Walls et al, 2020, P. Asrani, etc.2020).

Στην εικόνα 4 που ακολουθεί γίνεται σύγκριση της γονιδιωματικής σειράς των SARS-CoV-2, SARS-CoV και ανάλυση των διαφοροποιήσεων τους σε αυτήν.



Εικόνα 4: Σύγκριση γονιδιωματική σειράς των Betacoronavirus για τους ανθρωπίνους κορωνοϊούς (SARS-CoV-2, SARS-CoV) αποτελείται από την 5'-αμετάφραστη περιοχή (5'-UTR), το ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης (orf) 1a/b (πράσινο κουτί), την πρωτεΐνη ακίδας S (μπλε κουτί), την πρωτεΐνη περιβλήματος E (κόκκινο κουτί), την πρωτεΐνη μεμβράνης M (σομόν κουτί) και την πρωτεΐνη νουκλεοκαψιδίου N (γαλάζιο κουτί), βοηθητικές πρωτεΐνες (ανοιχτό γκρι κουτιά) όπως orf 3, 6, 7a, 7b, 8 και 9b στο γονιδίωμα SARS-CoV-2 και στην αμετάφραστη περιοχή 3' (3'-UTR). Οι κόκκινες κουκκίδες κάτω από τις βοηθητικές πρωτεΐνες υποδεικνύουν την βασική διακύμανση μεταξύ SARS-CoV-2 και SARS-CoV (M. Shereenb et. al, 2020).

Χαρακτηριστικά η αναλυτική γονιδιωματική οργάνωση του SARS-CoV-2 αναφέρεται στην εικόνα 5, με επισήμανση των δομικών πρωτεϊνών του, (η πρωτεΐνη S εμφανίζεται με κόκκινο χρώμα, η πρωτεΐνη φακέλου E με μπλε, η μεμβρανική πρωτεΐνη M με γκρι χρώμα και η νουκλεοκαψιδική πρωτεΐνη N με πράσινο χρώμα με βοηθητικά γονίδια όπως 3a, 3d, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 14 και 10 που παρεμβάλλονται μεταξύ τους). Παρατηρείται επίσης γονιδιωματική σειρά των δύο μεγάλων γονιδίων ORF1a και ORF1b αποτελούμενων από τις μη δομικές πρωτεΐνες, άλλα και των λοιπών γονδιακών περιοχών ORF και τις πλευρικές αμετάφραστες περιοχές (UTRs) τα 5'- και 3'.



Εικόνα 5: Αναλυτική γονιδιωματική οργάνωση του SARS-CoV-2: με διάταξη 5'-cap-leader-UTR-replicase-S (Spike) –E (Envelope) -M (Membrane ) -N (νουκλεοκαψίδιο)-3'UTR-πολύ (A) ουρά με βοηθητικά γονίδια όπως 3a, 3d, 6, 7a, 7b, 8, 9b, 14 και 10 που παρεμβάλλονται μεταξύ των δομικών γονιδίων που προηγούνται του άκρου 3' του γονιδιώμα ιικού RNA (Yadav et. al, 2021).

Όπως συμβαίνει και στους άλλους βCoV το γονιδίωμα Sars-CoV-2 περιέχει δύο πλευρικές αμετάφραστες περιοχές (UTRs) τα 5'- και 3'- με μήκος νουκλεοτιδίων 265 και 358 αντίστοιχα και ένα ενιαίο μακρύ ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης που κωδικοποιεί μια πολυπρωτεΐνη.

Τα 2/3 του γωνιδιώματος του αποτελούνται από δύο μεγάλα γονίδια ORF1a και ORF1b που κωδικοποιούν 16 μη δομικές πρωτεΐνες (nsps) ενώ το τελευταίο 1/3 κωδικοποιεί δομικά και βοηθητικά γονίδια του ιού.

Συγκεκριμένα οι πολυπρωτεΐνες ρεπλικάσης κωδικοποιούνται στο 5'- ORF1a/b και διασπώνται πρωτεολυτικά σε 16 (nsps) (Zhu et. All, 2020, M. Shereenb et. al, 2020, Chan, et. al, 2020, Rauti et. Al, 2021, Zhao, et all, 2020, C.Walls et al, 2020, P. Asrani, etc.2020).



### 2.3 Κύκλος ζωής του ιού SARS-CoV-2

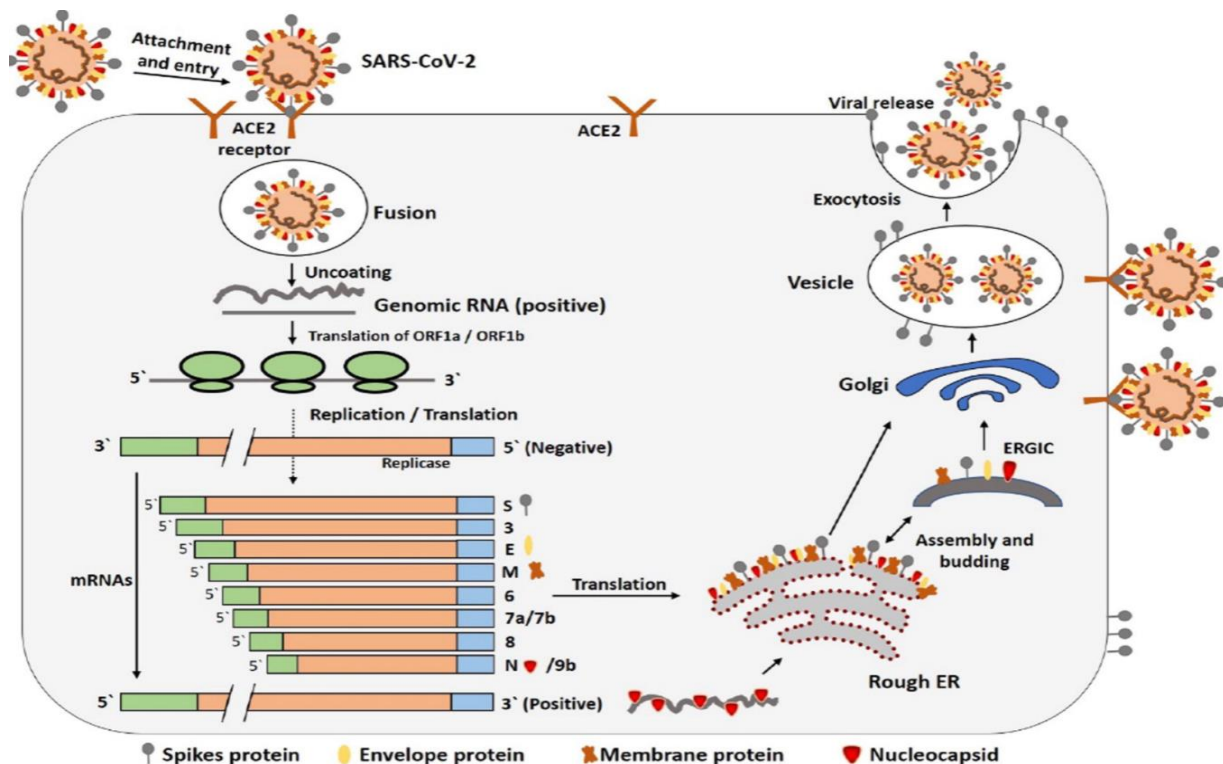
Όταν ολοκληρωθεί η σύντηξη του ιικού φακέλου, με την συμβολή της πρωτεΐνης S, ακολουθεί η διαδικασία πρόσβασης του ιού στο κυτταρόπλασμα. Η συγκεκριμένη διαδικασία επιτυγχάνεται με την πρωτεολυτική διάσπαση της πρωτεΐνης S από μια καθεψίνη και έχουν σαν αποτέλεσμα την σύνταξη ιικών και κυτταρικών μεμβρανών.

Το επόμενο βήμα του αντιγραφικού κύκλου του SARS-CoV-2 είναι η απελευθέρωση του ιικού RNA στο κυτταρόπλασμα των κύτταρων του ξενιστή και ξεκινά η μετάφραση του RNA (m RNA).

Η κωδικοποίηση γίνεται από το ORF1a και το προϊόν προς μετάφραση αποτελεί μια πολυπρωτεΐνη 1 a (pp1a). Αφού κωδικοποιηθεί έχουμε έκφραση της στο κωδικόνιο ORF1a. Η pp1a πλέον μπορεί να επεκταθεί σε κωδικοποίηση πολυπρωτεΐνης pp1ab από το ORF1b και μια συνεχόμενη ακολουθία. Κατά αυτόν τον τρόπο έχουμε την απόδοση ενός μεγάλου πρωτεϊνικού συμπλέγματος που καλείται ιική ρεπλικάση.

Αυτές οι πολυπρωτεΐνες ιικής ρεπλικάσης διασπώνται πρωτεολυτικά, από πρωτεάσες, σε 16 μη δομικές πρωτεΐνες (nsps), που ονομάζονται nsr1 έως nsr16, των οποίων οι αλληλεπιδράσεις συμπεριλαμβανομένου του ιικού RdRP (προερχόμενο από διασπασμένες πολυπρωτεΐνες ORF1a και ORF1b) είναι συνεχείς και επακολουθούντες, οδηγούν στον σχηματισμό του RTC (συμπλόκου αντιγραφής και μεταγραφής) στο +gRNA για μεταγραφή gRNA ιού και την σύνθεση sgRNA όπου ολοκληρώνεται και η διαδικασία, έχοντας την δημιουργία πολλαπλών ιικών αντιγράφων και την δημιουργεί βοηθητικών και δομικών πρωτεϊνών S,M,N,E του ιού. Οι παραγόμενες πρωτεΐνες προσδένονται στην μεμβράνη ενδοπλασματικού δικτύου (endoplasmatic reticulum, ER) των προσβεβλημένων κυττάρων και από εκεί κατευθύνονται στο σύμπλεγμα Golgi όπου λειτουργούν για την διαδικασία συναρμολόγησης ιοσωματίων και τελικά εξέρχονται από το κύτταρο μέσω της εξωκυττάρωσης (Chan, et. al, 2020, P. Asrani, etc.2020, C.Walls et al, 2020, Rauti et. Al, 2021, M. Shereenb et. al, 2020, Yadav et. al, 2021, Wang et. All, 2020).

Στην εικόνα 6 που ακολουθεί περιγράφονται τα 5 βασικά στάδια του κύκλου ζωής του SARS-CoV-2 από την δέσμευση της πρωτεΐνης ακίδας S με το μετατρεπτικού ένζυμα αγγειοτενσίνης 2 ACE2, στην σύντηξη μεμβρανών, την απελευθέρωση του ιικού RNA, την μετάφραση του γωνιδιώματος, την παραγωγή υπογωνιδιωμάτων, την μετάφραση ιικών πρωτεϊνών και την δημιουργία ιοσωματίων SARS-CoV-2.



Εικόνα 6: Τα πέντε στάδια του κύκλου ζωής του SARS-CoV-2 (M. Shereenb et. al, 2020).

1. Ο κύκλος ζωής του ιού ξεκινά με την δέσμευση της πρωτεΐνης ακίδας S.
2. Ακολουθεί η σύντηξη μεμβρανών και η απελευθέρωση του ιικού RNA.
3. Μετά την απελευθέρωση του ιικού RNA γίνεται η μετάφραση του γονιδιώματος.
4. Παραγωγή υπογονιδιωμάτων με την συμβολή της πολυμεράσης και η μετάφραση ιικών πρωτεϊνών.
5. Τέλος η δημιουργία ισωματίων στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στο σύμπλεγμα Golgi από τις παραγόμενες ιικές πρωτεΐνες και του RNA του γονιδιώματος.

## 2.4 Πρωτεΐνες γονιδιώματος SARS-CoV-2

### 2.4.1 Δομικές πρωτεΐνες

- Πρωτεΐνη Spike

Στην γλυκοπρωτεΐνη Spike οφείλεται η είσοδος των κορονοϊών στα κύτταρα ξενιστών με την δέσμευση της σε στα μόρια του υποδοχέα σηματοδοτώντας την μόλυνση των κυττάρων του ξενιστή. Αποτελείται από 1273 αμινοξέα, παρουσιάζει ομοτριμερή συνάθροιση (σύνδεση τριών πολυπεπτιδικών αλυσίδων πρωτεΐνης S). Κάθε μια πρωτεΐνη S αποτελείται από δύο υπομονάδες S1 και S2.

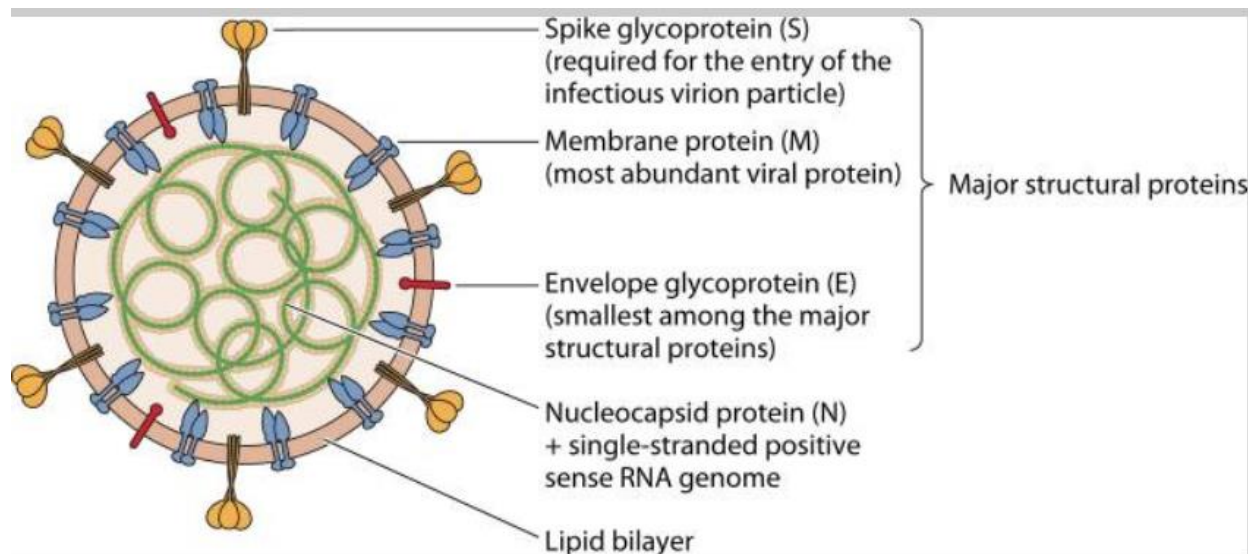
Στην υπομονάδα S1 περιλαμβάνεται η περιοχή δέσμευσης υποδοχέα (RBD) όπου αλληλεπιδρά με το μετατρεπτό ενζυμο αγγειοτενσίνη ACE2 (που είναι λειτουργικός υποδοχέας της κυτταρικής μεμβράνης του SARS-CoV-2), διευκολύνοντας την κυτταρική αναγνώριση και δέσμευση. Η περιοχή δέσμευσης υποδοχέα, RBD αποτελεί κρίσιμος στόχος για αντιικές ενώσεις και αντισώματα .

Η υπομονάδα S2 περιέχει πεπτιδίο σύντηξης και λειτουργεί για ενσωμάτωση του ιού στα κύτταρα ξενιστών.

Κατά την είσοδο του SARS-CoV-2 μολύνονται κύτταρα του αναπνευστικού, του γαστρεντερικού άλλα και του νευρικού συστήματος. Τα συγκεκριμένα συστήματα αποτελούνται από κύτταρα στα όποια συναντάται η αγγειοτενσίνη-2, η όποια λειτουργεί ως θέση προσάρτησης του SARS-CoV-2.

Το ενζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης ACE2, είναι ένα πρωτεολυτικό ενζυμο που δρα στην αγγειοτενσίνη I και II καθώς και με άλλα αγγειοδραστικά πεπτιδία και εκφράζεται σε πολλά όργανα του ανθρώπινου οργανισμού (Beeckmans & Van Driessche, C.Walls et al, 2020, Dhama et. al, 2020, Wang et. All, 2020).

Οι βασικές δομικές πρωτεΐνες στο ιοσωμάτιο του SARS-CoV-2 με την χαρακτηριστική τριμερή μορφή της πρωτεΐνης ακίδας S (η οποία απαιτείται για την είσοδο του ιοσωματίου ώστε να προκληθεί η μόλυνση), με μπλε χρώμα φαίνεται η μεμβρανική πρωτεΐνη M, με κόκκινο παρουσιάζεται η πρωτεΐνη φακέλου (E) αναφέρονται αναλυτικά στην εικόνα 7.



Εικόνα 7: Δομικές πρωτεΐνες του SARS-CoV-2 (Dhama et. al, 2020)

- **Πρωτεΐνη M**

Η πρωτεΐνη μεμβράνης (M), παρουσιάζει ποικίλη σύνθεση αμινοξέων και σταθερότητα στην παρουσία της σύνθεσης της σε διαφορετικά γένη κορωνοϊών. Λειτουργία αυτής αποτελεί η σύνδεση με άλλες δομικές πρωτεΐνες και του νουκλεοκαψιδίου ώστε να ακολουθήσει η μοριακή συναρμολόγηση σωματιδίων του ιού (Dhama et. al, 2020, Rauti et. Al, 2021).

- **Πρωτεΐνη φακέλου E**

Η πρωτεΐνη φακέλου (E), παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση, τη μοριακή συναρμολόγηση μορφογένεση τού ισσωματίου. Στην συνέκφραση E και M είναι αρκετή για τη συναρμολόγηση και την απελευθέρωση ισσωματίων με ομοιότητα στον ιό (Dhama et. al, 2020, Rauti et. Al, 2021).

- **Πρωτεΐνη N**

Στην νουκλεοκαψιδική πρωτεΐνη N οφείλεται η στη οργάνωση του ιικού γωνιδιώματος, διευκολύνει τη συναρμολόγηση του ιού και ενισχύει την αποτελεσματικότητα της μεταγραφής του ιού (Dhama et. al, 2020, Rauti et. Al, 2021).

#### **2.4.2 Μη δομικές πρωτεΐνες**

Οι μη δομικές πρωτεΐνες NSP1 έως NSP 10 και NSP12 έως NSP16, κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται εντός της περιοχής 5' του γωνιδιώματος του ιικού RNA όπως αναφέρεται και στον κύκλο ζωής του SARS-CoV-2.

Το **Nsp1** αποτελεί αλληλουχία οδηγός. Μεσολαβεί στην επεξεργασία και την αντιγραφή του RNA και καταστέλλει την αντιική απόκριση.

Το **Nsp2** λειτουργεί ως ρυθμιστής στην σηματοδότηση επιβίωσης του κυττάρου ξενιστή. Η απουσία του μειώνει την ανάπτυξη του ιού και την σύνθεση RNA.

Το **Nsp3** πιστεύεται ότι συμμετέχει στην ιική αντιγραφή με την συμμετοχή των Nsp4 και Nsp6.

Το **Nsp4** σε σχηματισμό στο προαναφερόμενο σύμπλοκο nsp3-nsp4-nsp6 εξυπηρετεί στην είσοδο των ιικών αντιγράφων στο κυτταρόπλασμα.

Το **Nsp5** συμμετέχει στη διαδικασία διάσπασης πολλαπλών διακριτών περιοχών ώστε να αποδοθούν μη δομικές πρωτεΐνες.

Το **Nsp6** είναι μια υποθετική διαμεμβρανική περιοχή. Συμμετέχει στον περιορισμέ επέκτασης των αυτοφαγωσωμάτων στο κυτταρόπλασμα.

Το **Nsp7** συμμετέχει στο σύμπλοκο nsp7 και nsp8 και nsp12 στην απόδοση της δράσης RNA-RNA εξαρτώμενης πολυμεράσης.

Το **Nsp8** το οποίο συμμετέχει και αυτό στο σύμπλοκο nsp7 και nsp8 και nsp12 και λειτουργεί για την αναγνώριση σήματος και το μιτοχονδριακό ριβόσωμα.

Το **Nsp9** λειτουργεί ως πρωτεΐνη δέσμησης ssRNA.

Το **Nsp10** είναι τμήμα του συμπλόκου nsp16 και nsp14, απαραίτητο για την αντιγραφή.

Το **Nsp11** έχει άγνωστη λειτουργία

Το **Nsp12** περιέχει την εξαρτώμενη από RNA πολυμεράση RNA (RdRp), η οποία είναι μια κρίσιμη σύνθεση για την αντιγραφή του ιικού γονιδιώματος.

Το **Nsp13** ξεκινά την κάλυψη του ιικού m RNA στο κυτταρόπλασμα του ξενιστή. Στην διαδικασία συνεισφέρουν ως σύμπλοκο τα nsp 13,14,16.

Το **Nsp14** είναι μια περιοχή που διορθώνει τις μεταλλάξεις στην αντιγραφή του γονιδιώματος εκτός της συμβολής της όπως αναφέρθηκε παραπάνω στο σύμπλοκο nsp 13,14,16 για την κάλυψη του ιικού mRNA.

Το **Nsp15** έχει ειδική δράση ενδονουκλεάσης, αποτελεί απαραίτητη για την σύνθεση ιικού RNA.

Το **Nsp16** και σχηματίζοντας σύμπλοκο με nsp10 και nsp14 σταθεροποιεί τα ομοένζυμα και λειτουργεί για την κάλυψη του mRNA (C.Walls et al, 2020, Rauti et. Al, 2021).

## 2.5 Χρόνος επώασης του ιού

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), η περίοδος επώασης του SARS-CoV-2 κυμαίνεται από 1 έως 14 ημέρες (ΠΟΥ, 2020). Η κατανομή της περιόδου επώασης μπορεί να ποικίλλει μεταξύ των ατόμων που έχουν μολυνθεί κατά περίπτωση.

Κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω διερεύνηση γνώσεων της περιόδου επώασης του SARS-CoV-2 με κύριο όφελος την απομόνωση μολυσμένων περιπτώσεων, την καραντίνα των ανθρώπων που ήρθαν σε επαφή για τον περιορισμό της μετάδοσης στην κοινότητα. Καθώς και για την υποστήριξη έρευνες όπως την παρούσα ώστε να χρησιμοποιηθούν σε συσχετίσεις της αρχής μετάδοσης του ιού.

Σε μια συγκεντρωτική έρευνα μελετών του χρόνου επώασης του COVID-19 υπολογίστηκε ως μέση περίοδος επώασης 6,38 ημέρες με διάστημα εμπιστοσύνης 95%, σε ένα εύρος αναφορών χρόνου επώασης 2,33–17,60 ημερών (C. Elias et. al 2021).

Οι έρευνες Xia. et. al 2020, Zhang. Et. al (2) και Zhao et al, δείχνουν σαν μέση περίοδο επώασης του SARS-CoV-2 της επτά ημέρες.

## 2.6 Ορισμοί συμπτωματολογίας

Για την καλύτερη η κατανόηση της μετάδοσης του ιού θα γίνει αναφορά στους ορισμούς ασυμπτωματικό, προσυμπτωματικό και συμπτωματικό ατόμου.

- **Ασυμπτωματικό άτομο**

Τα ασυμπτωματικά άτομα, δεν παρουσιάζουν συμπτώματα που σχετίζονται με την νόσο, μεταφέρουν τον ιό και είναι ικανά να μολύνουν τους γύρω τους. Το ποσοστό ασυμπτωματικών στην νόσο κυμαίνεται σε 6-41% ενώ το ποσοστό σε άλλες μελέτες αγγίζει το 80% και μπορεί να περιλαμβάνει άτομα σε διαφορετικές ηλικίες. Άγνωστο παραμένει προς το παρόν το γεγονός ο τρόπος που τα άτομα αυτά δεν παρουσιάζουν καθόλου συμπτώματα. Μελέτες αναφέρουν ότι τα ασυμπτωματικά άτομα μπορούν να μεταδώσουν τον ιό για μεγάλο χρονικό διάστημα, ίσως περισσότερο των 14 ημερών. Η μετάδοση του SARS-CoV-2 από ασυμπτωματικά άτομα είναι δύσκολο ως αντικείμενο προς μελέτη και απαιτεί περαιτέρω έρευνα (Hamouda et al, 2021, Li, et al, 2020, Oran & Topol, 2020).

- **Προσυμπτωματικό άτομο**

Προσυμπτωματικά είναι τα άτομα τα οποία είναι ικανά να μεταδώσουν τον ιό αλλά δεν έχουν εμφανίσει ακόμη συμπτώματα σχετικά με την μόλυνση από SARS-CoV-2.

- **Συμπτωματικό άτομο**

Τα συμπτωματικά άτομα μπορεί να εμφανίσουν ήπια ή και έντονα συμπτώματα που σχετίζονται με την νόσο SARS-CoV-2 εντός 2-14 ημερών.

### 2.6.1 Συμπτώματα

Κοινά συμπτώματα που εκδηλώνονται μετά την έκθεση στον Covid 19 στους ανθρώπους σύμφωνα με τον ΠΟΥ είναι:

- Πυρετός
- Βήχας
- Έντονη καταβολή
- Απώλεια γεύσης ή όσφρησης. Τα δύο τελευταία αποτελούν πρώιμα συμπτώματα (WHO, 2020).

Ακολουθώντας τα λιγότερα κοινά:

- Πονόλαιμος
- Πονοκέφαλος
- Μυαλγίες
- Διάρροιες
- Ερυθρότητα η ερεθισμός στους οφθαλμούς
- Και εξανθήματα στο δέρμα ή αποχρωματισμός των άκρων.

- Η εμφάνιση συμπτωμάτων είναι κοινή σε ενήλικες και παιδιά (CDC, 2021, WHO, 2021).

Τα συμπτώματα που κρούουν τον κώδωνα του κινδύνου και απαιτούν άμεση ιατρική βοήθεια είναι:

- ❖ Δυσκολία στην αναπνοή ή δύσπνοια
- ❖ Πόνος στο στήθος
- ❖ Σύγχυση ή απώλεια ομιλίας, κινητικότητας (CDC, 2021, WHO, 2020).

Οι ηλικιωμένοι, οι ανοσοκατεσταλμένοι και γενικότερα τα άτομα τα οποία έχουν εκδηλώσει κάποια ασθένεια από την παρακάτω λίστα εμφανίζουν υψηλότερο κίνδυνο σοβαρής νόσησης. Σοβαρές καρδιακές παθήσεις (καρδιακή ανεπάρκεια, στεφανιαία νόσο ή μυοκαρδιοπάθεια)

1. Καρκίνος
2. Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ)
3. Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1 ή τύπου 2
4. Υπερβολικό βάρος, παχυσαρκία ή σοβαρή παχυσαρκία
5. Υψηλή πίεση
6. Κάπνισμα
7. Χρόνια νεφρική νόσος
8. Δρεπανοκυτταρική αναιμία ή θαλασσαιμία
9. Εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα από μεταμοσχεύσεις συμπαγών οργάνων ή μεταμοσχεύσεις μυελού των οστών
10. Εγκυμοσύνη
11. Άσθμα
12. Χρόνιες πνευμονικές παθήσεις
13. Ηπατική νόσο
14. Άνοια
15. Σύνδρομο Down
16. Εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος από μεταμόσχευση μυελού των οστών, HIV ή κάποια φάρμακα
17. Καταστάσεις του εγκεφάλου και του νευρικού συστήματος, όπως εγκεφαλικά επεισόδια
18. Διαταραχές χρήσης ουσιών (WHO, 2020, CDC, 2021).

## 2.7 Μετάδοση

Όπως έχει προαναφερθεί και γνωρίζουμε ότι συμβαίνει και με τον ιό Sars Cov, ο Sars CoV 2 ξεκινά τη μόλυνση προσδένοντας τις πρωτεΐνες της ακίδας (S) σε υποδοχείς του μετατρεπτικού ενζύμου 2 (ACE2) της αγγειοτενσίνης με τα κύτταρα ξενιστές. Στη συνέχεια, το ιικό RNA εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα και αναπαράγεται. Μετά την εισπνοή του ιού, ακολουθεί εναπόθεση του στα κυψελιδικά κύτταρα, στους βρόγχους και τους πνεύμονες οδηγώντας στην εμφάνιση σοβαρού οξέος αναπνευστικού

συνδρόμου (SARS) σε ασθενείς με COVID-19. Η απελευθέρωση του ιού μπορεί να συμβεί με τους ακόλουθους τρόπους (WHO, 2020).

- **Μετάδοση από σταγονίδια.**

Η μετάδοση του SARS-CoV-2 συμβαίνει μέσω άμεσης, έμμεσης ή στενής επαφής (εντός 1 μέτρου) με άτομα τα οποία έχουν μολυνθεί από τον ιό μέσω των εκκρίσεων τους (σάλιο και αναπνευστικές εκκρίσεις ή αναπνευστικά σταγονίδια), όταν ένα μολυσμένο άτομο παρουσιάζει αναπνευστικά συμπτώματα (βήχει, φτερνίζεται), μιλάει ή τραγουδά. Τα σταγονίδια που μεταφέρουν τον ιό φτάνουν στο στόμα, την μύτη ή τα μάτια της επαφής και ακολουθεί η μόλυνση. Η γενική οδηγία μετάδοσης του ιού από τον ΠΟΥ είναι η μετάδοση με κοντινή επαφή όπου η έκθεση είναι περισσότερη από 15 λεπτά σε απόσταση μικρότερη των 2 μέτρων, με τον φορέα του ιού (WHO, 2020).

- **Αερομεταφερόμενη μετάδοση**

Η επιστημονική κοινότητα προσπαθεί να αποδείξει μέσω ερευνών την αερομεταφερόμενη διάδοση (μετάδοση μέσω αερολυμάτων). Κατά την διάρκεια της εκπνοής του αέρα μέσω της φυσικής αναπνοής και της ομιλίας ή και μέσω της εξάτμισης, δημιουργούνται μικροσκοπικά αερολύματα διαμέτρου (<5 μm) τα οποία καταλήγουν σε χώρους όπου παραμένουν άτομα που νοσούν.

Η έκθεση ατόμων με ευαισθησία στα συγκεκριμένα αερολύματα, όταν μεταφέρουν επαρκή ποσότητα ιικού φορτίου μπορεί να προκαλέσει μόλυνση στον δέκτη. Η θεωρία της αερομεταφερόμενης μετάδοσης δεν έχει αποδειχθεί ακόμη σε μελέτες και βασίζεται συμφώνα και με τον ΠΟΥ στις μελέτες άλλων αναπνευστικών ιών (WHO, 2020).

- **Μετάδοση από μολυσμένες επιφάνειες**

Τα μολυσμένα σταγονίδια ή εκκρίσεις εναποτίθενται σε επιφάνειες καθιστώντας τις μολυσμένες. Ο ιός SARS-CoV-2 έχει μια εξαιρετική ικανότητα επιβίωσης στο περιβάλλον. Η ικανότητα επιβίωσης του στις μολυσμένες επιφάνειες κυμαίνεται από ώρες έως ημέρες, ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος (θερμοκρασία, υγρασία) και τον τύπο της επιφάνειας. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης (θάλαμοι ασθενών με COVID-19) όπου παρατηρείται υψηλή συγκέντρωση του ιού. Η μετάδοση μπορεί επίσης να συμβεί έμμεσα μέσω της επαφής επιφανειών ή αντικειμένων και η επαφή με αυτά μπορεί να οδηγήσει σε μόλυνση (WHO, 2020).

- **Άλλοι τρόποι μετάδοσης**

Ο ιός SARS-CoV-2 έχει σε διάφορα βιολογικά δείγματα. Η παρουσία ιικού φορτίου SARS-CoV-2 σε ούρα και κόπρανα ασθενών έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες. Η ικανότητα μετάδοσης του SARS-CoV-2 μέσω των συγκεκριμένων βιολογικών δειγμάτων δεν είναι ακόμη γνωστή.



Η ανίχνευση RNA του SARS-CoV-2 έχει επιτευχθεί επίσης σε πλάσμα και στον ορό ασθενών, οι χαμηλοί ιικοί τίτλοι σε αυτά τα βιολογικά υγρά υποδηλώνουν ότι ο κίνδυνος μετάδοσης μέσω αυτής της οδού είναι χαμηλός.

Η ενδομήτρια μετάδοση από μολυσμένες έγκυες γυναίκες στα έμβρυά τους, και ο θηλασμός δεν έχουν αποδειχθεί ακόμη ως τρόποι μετάδοσης του SARS-CoV-2.

Ο ΠΟΥ συνιστά ενθαρρύνει τις μητέρες με υποψία ή επιβεβαιωμένο COVID-19 ξεκινήσουν ή να συνεχίσουν να θηλάζουν (WHO, 2020).

### **2.7.1 Ικανότητα μετάδοσης SARS-CoV-2**

Οι κλειστοί πολυσύχναστοι χώροι, όπου παρατηρείται συσσώρευση μολυσμένου αέρα λόγω μη καλής ανανέωσης (κλειστά παράθυρα) και η παρατεταμένη παραμονή σε χώρους (γυμναστήρια, κέντρα διασκέδασης, εστιατόρια, καφέ, χώροι λατρείας, κλειστές πισίνες διευκολύνουν την μετάδοση του ιού).

Η μετάδοση σε τέτοιους χώρους εντείνεται από συμπτωματικά άτομα, η προσυμπτωματικά άτομα όπου δεν κρατάνε τις γνώστες αποστάσεις και δεν τηρούν τα μέτρα ατομικής υγιεινής (WHO, 2020).

### **2.8 ACE2 και ανθρώπινος οργανισμός**

Οι CoVs χρησιμοποιούν διάφορους κυτταρικούς υποδοχείς για την είσοδο τους στον ανθρώπινο οργανισμό. Ο μοριακή αλληλεπίδραση των ιών με τους κατά περίπτωση κυτταρικούς υποδοχείς αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στο πως επηρεάζονται οι προσβαλλόμενοι ιστοί και τα κύτταρα όταν έρθουν σε επαφή με έναν CoV.

Πολλοί CoVs, χρησιμοποιούν πεπτιδάσες της κυτταρικής επιφάνειας των ξενιστών ως υποδοχείς τους, κάποιιοι αλφακορωνοϊοί χρησιμοποιούν την αμινοπεπτιδάση, ο MERS-CoV έχει υποδοχέα την διπεπτιδυλ-πεπτιδάση 4 (DPP4). Και είσοδος του SARS-CoV και SARS-CoV-2 στα ανθρώπινα κύτταρα επιτυγχάνεται με την αλληλεπίδραση μεταξύ της πρωτεΐνης ακίδας S του ιού και του υποδοχέα των ανθρώπινων κυττάρων που αποτελείται από το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2) (Hoffmann et al. 2020).

Ο SARS-CoV-2 χρησιμοποιώντας τις λειτουργικές υπομονάδες S1 και S2 και χρησιμοποιώντας το ACE2 κάνει την είσοδο του στα κύτταρα ξενιστή. Η υπομονάδα S1 βοηθάει στην προσκόλληση στην κυτταρική μεμβράνη των προσβαλλόμενων κυττάρων και η S2 στην σύντηξη των κυτταρικών μεμβρανών όπως αναφέρεται και παραπάνω.

Για την εκκίνηση της συγκεκριμένης διαδικασίας απαιτητέ η συμμετοχή και άλλων κυτταρικών συνυποδοχέων, όπως της κυτταρικής πρωτεάσης σερίνης (TMPRSS2), που συμβάλει στη διάσπαση πρωτεολυτικά στις πρωτεάσες της πρωτεΐνης ακίδας S ώστε να

ενεργοποιηθεί ο μηχανισμός σύντηξης – εισόδου (Vlachakis et. al, 2020, Jia ,Neptune & Cui, 2020, Hoffmann et al. 2020, Ding & Liang, 2020).

Έρευνες απέδειξαν ότι ο SARS-CoV-2 δεσμεύει 10-20 φορές περισσότερο από τον SARS-CoV το ACE2 (Stein & Young, 2020).

Έχει παρατηρηθεί ότι το ACE2 συνδέεται με το X και κατεπέκταση στην έκφραση του στο φύλο. Δεδομένης της συγκεκριμένης παρατήρησης σε έρευνες αναφέρονται οι παρατηρήσεις για σοβαρότερες κλινικές εκδηλώσεις στους άνδρες σε σύγκριση με της γυναίκες με COVID-19 (Ding & Liang, 2020, Galbadage et. all, 2020).

Η σημαντικότητα του ένζυμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2) τονίζεται λόγω της σύνδεσης του με το ενδοκρινικό αγγειοδραστικό μονοπάτι σηματοδότησης, το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης (RAAS). ο μηχανισμός του συστήματος RAAS ελέγχει την ισορροπία νατρίου-καλίου, την αιμοδυναμική σταθερότητα, την αρτηριακή πίεση ρυθμίζει τις λειτουργίες νευρικού, καρδιαγγειακού συστήματος και νεφρών, εμπλέκεται στην αναδιαμόρφωση των ιστών και στην ομοιοστάση του ανοσοποιητικού συστήματος (Stein & Young, 2020).

Όπως έχει αποδειχθεί σε μελέτες το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2), παρουσιάζεται ευρέως σε πολλούς κυτταρικούς τύπους. Αποδεδειγμένα εμφανίζεται σε κυψελιδικά κύτταρα, σιελογόνους αδένες, στον επιπεφυκότα, στο γαστρεντερικό σωλήνα ,στους νευρώνες, στα νευρογλοιακά κύτταρα, στον λιπώδη ιστό, σε αρτηριακά και φλεβικά ενδοθηλιακά κύτταρα, αρτηριακά λεία μυϊκά κύτταρα, κύτταρα στην καρδιά, στα νεφρά, στο ήπαρ, μήτρα, κόλπος, και του βλεννογόνου της στοματικής κοιλότητας στο πάγκρεας , στον θυρεοειδή αδένα, στους όρχεις, στις ωοθήκες, στα επινεφρίδια κ.α. (Stein & Young, 2020).

Με την εξέλιξη της πανδημίας το επιστημονικό για το ACE2 αυξήθηκε. Η παρουσία του σε ολόκληρο τον οργανισμό μελετάτε για την αύξηση της νοσηρότητας μετά την είσοδο του SARS-CoV-2 καθώς η αλλαγή των επιπέδων του ACE2 ύστερα από μόλυνση με το ιό προκαλεί παχυσαρκία, διαβήτη, καρδιαγγειακά νοσήματα, υπέρταση νεφροπάθειες κ.α. (Stein & Young, 2020).

## **2.9 Παρουσία Sars CoV-2 στα κόπρανα**

Όλοι οι ανθρώπινοι παθογόνοι CoVs (229E, SARS-CoV, MERS-CoV, και SARS-CoV-2) χρησιμοποιούν ως υποδοχείς τους τα ένζυμα ACE2, DPP4 και αμινοπεπτιδάση καθώς και την TMPRSS2. Τα αναφερόμενα ένζυμα έχουν μεγάλη έκφραση στα κύτταρα του γαστρεντερικού συστήματος.

Το γαστρεντερικό σύστημα του ανθρώπου όπως και το αναπνευστικό σύστημα περιέχει ένζυμα μετατροπής της αγγειοτενσίνης 2 (ACE2). Οι πρωτεΐνες του υποδοχέα ACE2 καθώς και η TMPRSS2 εκφράζεται σε ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό στα επιθηλιακά κύτταρα όλου του γαστρεντερικού σωλήνα (επιθηλιακά κύτταρα οισοφάγου, στομάχου, δωδεκαδάκτυλου, στο ειλεό, στο κόλον και το ορθόν). Όπως αναφέρθηκε και

παραπάνω η ACE-2 και η TMPRSS2 αλληλεπιδρούν με την ακίδα S του SARS-CoV-2 δημιουργώντας έναν δεσμό μεταξύ του ιού και των κύτταρων του ξενιστή (Vlachakis et al, 2020, Jia ,Neptune & Cui, 2020, Hoffmann et al. 2020).

Στην παρουσία τους στα εντεροκύτταρα στηρίζεται η προσβολή του γαστρεντερικού συστήματος και η πιθανότητα εκδήλωσης συμπτωμάτων που σχετίζονται με τον SARS-CoV-2.

Τόσο στην περίπτωση του SARS-CoV του SARS-CoV-2 όσο και στον MERS-CoV έχουν αναφερθεί συμπτώματα που αφορούν και την έκφραση της λοίμωξης στον γαστρεντερικό σωλήνα (Cevik, et. al 2020).

Η παρουσία του Covid 19 στα κόπρανα ατόμων που νοσούν, έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές έρευνες. Ο ιός SARS-CoV-2 ανιχνεύεται στον κατώτερο και στον ανώτερο αναπνευστικό σύστημα, καθώς και στα κόπρανα και ούρα, ανεξάρτητα από τη βαρύτητα της νόσου. σύμφωνα με τις έρευνες Jiang et al., 2020, Park et al., 2020, Tang et al., 2020, Havers et al., 2020; Saththasivam et al., 2021 οι ασθενείς με SARS-CoV-2 αποβάλλουν τον ιό στα κόπρανα τους ακόμη και αν είναι ασυμπτωματικοί ή προσυμπτωματικοί. Η μέση διάρκεια αποβολής RNA του SARS-CoV-2 ήταν 17 ημέρες για το ανώτερο αναπνευστικό , 14,6 ημέρες για το κατώτερο, 17,2 ημέρες για τα κόπρανα και 16,6 ημέρες στον ορό (Zhang et, all, 2020).

Τα δυο τρίτα των ανθρώπων που νοσούν από Covid 19 παρουσιάζουν στα κόπρανα τους RNA του ιού, ακόμη και μετά από αρνητικά αποτελέσματα στο ρινοφαρυγγικό επίχρισμα κατά 60%, ανεξάρτητα από την εκδήλωση συμπτωμάτων (Chen et. al 2020).

Πολλές μελέτες αναφέρουν το 50% των ασθενών με COVID-19 έχουν ανιχνεύσιμο ιό στα κόπρανα τους και μπορεί να παρουσιάσουν συμπτώματα γαστρεντερικά συμπτώματα όπως διάρροια, εμέτους και ναυτία. Σε μια συγκεντρωτική έρευνα από μελέτες που αφορούσαν την εκδήλωση συμπτωμάτων ασθενών με Covid 19, ο συγκεντρωτικός επιπολασμός όλων των γαστρεντερικών συμπτωμάτων (απώλειας όρεξης, ναυτίας/εμέτου, διάρροιας ή του κοιλιακού πόνου) ήταν 17,6%. Η απώλεια της όρεξης ήταν το πιο κοινό γαστρεντερικό σύμπτωμα 26,8%, με την διάρροια να ακολουθεί σε ποσοστό 12,5%, την εκδήλωση ναυτία/εμέτου σε ποσοστό 10,2% και τελευταίο σε εκδήλωση το κοιλιακό άλγος/ενόχληση σε ποσοστό 9,2% (Cheung, et. al 2020).

Το ιικό φορτίο στα κόπρανα ασθενών με COVID-19 υπολογίζεται μεταξύ  $10^3$  και  $10^7$  αντίγραφα / ml, ανάλογα με την πορεία της λοίμωξης (Mancini et. all, 2021).

Όλες οι πληροφορίες που σχετίζονται με την εκδήλωση και την έκφραση του SARS-COV-2 στο γαστρεντερικό σωλήνα έχουν αποτελέσει την πηγή της έναρξης της ιδέας αξιοποίησης.

## 2.10 Πρόληψη της μετάδοσης SARS-CoV-2

Από την αρχή της εμφάνισης της πανδημίας δημιουργήθηκε το Στρατηγικό Σχέδιο Ετοιμότητας και Αντίδρασης για τον COVID-19. Πρωταρχικός στόχος του αποτελεί ο έλεγχος, η καταστολή η πρόληψη ασθενειών και θανάτων από τον SARS-CoV-2.

Έρευνες βρίσκονται υπό εξέλιξη για τον τρόπο μετάδοσης του ιού. Απαραίτητη θεωρείτε η πλήρη κατανόηση του τρόπου και των συνθηκών όπου τα μολυσμένα άτομα μεταδίδουν τον ιό για την ανάπτυξη και εφαρμογή μέτρων ελέγχου και τον περιορισμό η την εξάλειψη της διασποράς.

Έκτος όμως των μέτρων περιορισμού που λαμβάνονται από τις δημόσιες αρχές πολύ σημαντική αποτελεί η ατομική υγιεινή. Όπως αντιλαμβάνεται εύκολα κανείς σύμφωνα με τον τρόπο μετάδοσης της νόσου ως μέτρα ατομικής υγιεινής αποτελούν :

1. Η υποχρεωτική χρήση ιατρικής μάσκας η μάσκας υψηλής αναπνευστικής προστασίας FFP2, FFP3 ή αναπνευστήρα N95.
2. Το συχνό πλύσιμο και απολύμανση των χεριών.
3. Η κάλυψη του στόματος όταν βήχουμε ή φταρνιζόμαστε με τον αγκώνα ή με χαρτομάντιλο και η απόρριψη αυτού σε κλειστό κάδο απορριμμάτων. Πάντα ακολουθεί το πλύσιμο και η απολύμανση των χεριών.
4. Αποφυγή επαφής με άτομα που παρουσιάζουν συμπτώματα της νόσου.
5. Καλός αερισμός των χώρων. Ειδικά αυτών όπου διαμένουν ασθενείς με SARS-CoV-2.
6. Τήρηση των 2 μέτρων ως απόσταση των επαφών και περιορισμός στενών επαφών ( π.χ. χειραψία).
7. Τα άτομα που εμφανίζουν συμπτώματα της νόσου κρίνεται απαραίτητο να ακολουθήσουν τις οδηγίες του ΕΟΔΥ (eody,2022).

Τα μέτρα ατομικής υγιεινής είναι ευθύνη όλων μας παρόλα αυτά η δυναμική του συγκεκριμένου ιού είναι ισχυρή παρουσιάζοντας μεγάλες εξάρσεις ανά τον πλανήτη. Απαραίτητο ως τρόπος πρόληψης της μετάδοσης θεωρείται και ο εντοπισμός ύποπτων κρουσμάτων σε μικρό χρονικό διάστημα ώστε να επιτευχθεί ο έλεγχος και η απομόνωση (καραντίνα) μολυσματικών ατόμων. Η καραντίνα των μολυσματικών ή εν δύναμη μολυσματικών ατόμων (στενών επαφών) μπορεί να περιορίσει την εμφάνιση δευτερογενών κρουσμάτων πριν αυτά εμφανίσουν συμπτώματα ή αρχίσουν να αποβάλλουν τον ιό εάν μολυνθούν, αποτρέποντας έτσι την εξάπλωση του ιού.

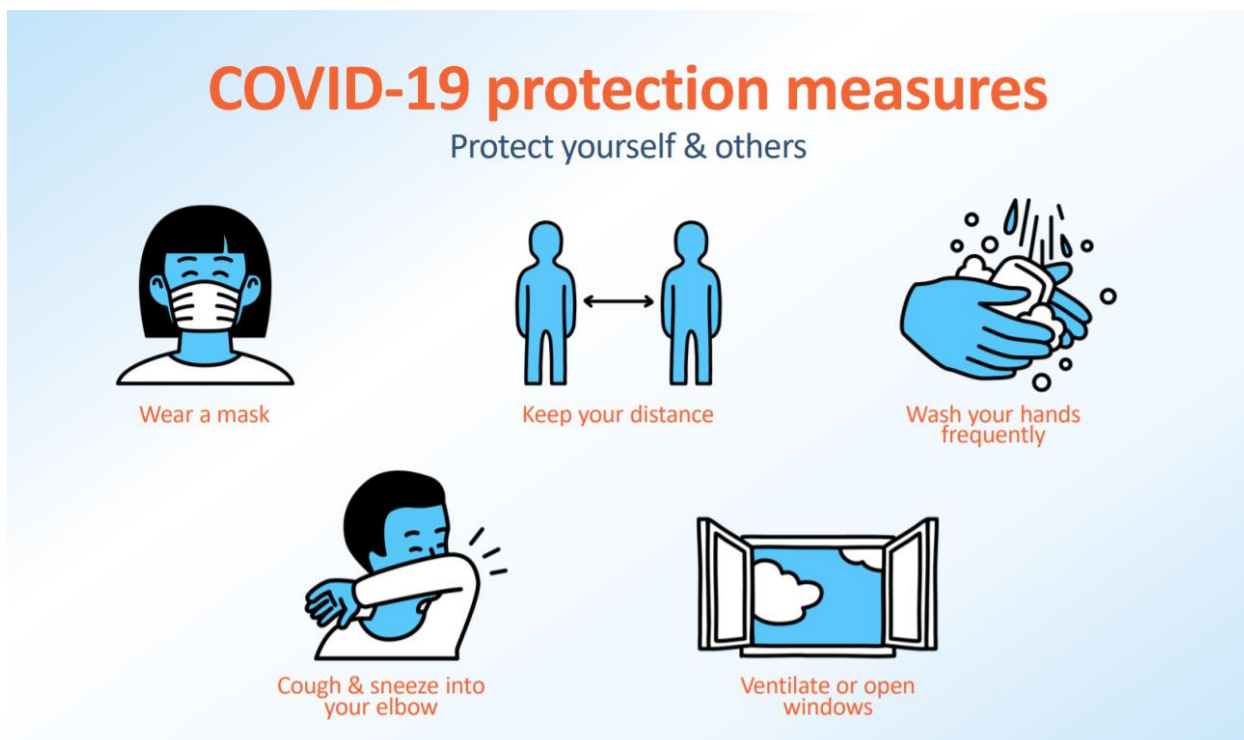
Ο χρόνος επώασης του SARS-CoV-2, αποτελεί τον χρόνο μεταξύ έκθεσης του ατόμου στον ιό και της εμφάνισης συμπτωμάτων, είναι σύμφωνα με τον ΠΟΥ 5-6 ημέρες κατά μέσο όρο, αλλά μπορεί να φτάσει και τις 14 ημέρες. Δεδομένου του εύρους των ημερών του χρόνου επώασης κατά περίπτωση, ο χρόνος παραμονής σε καραντίνα να είναι 14 ημέρες από την τελευταία έκθεση σε επιβεβαιωμένο κρούσμα. Το όριο των 14 ημερών αποτελεί τον χρυσό κανόνα ώστε να προφυλάσσεται η δημόσια υγεία και να περιορίζεται η μετάδοση του ιού στην κοινότητα (WHO,2020, eody,2022).

### 2.10.1 Μέτρα δημόσιας υγείας

Τα μέτρα προσωπικής υγιεινής δεν είναι ικανά να περιορίσουν την διασπορά στην κοινότητα. Πολλές χώρες για τον περιορισμό της μετάδοσης εφάρμοσαν στρατηγικές μείωσης της εξάπλωσης του ιού. Οι στρατηγικές που ακολουθήθηκαν είναι:

- Κοινωνική-σωματική αποστασιοποίηση
- Απαγορεύσεις στις δημόσιες συγκεντρώσεις
- Απαγόρευση των μη απαραίτητων ταξιδιών, ιδιαίτερα σε περιοχές ή χώρες που παρουσιάζουν μεγάλη μετάδοση στην κοινότητα.
- Ανίχνευση και υποχρέωση σε καραντίνα των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων άλλα και των επαφών με τα συγκεκριμένα άτομα.
- Κλείσιμο των σχολείων ή περιορισμός των σχολικών δραστηριοτήτων.
- Υποχρέωση σε τηλεργασία (WHO,2019, eody, 2022).

Τα απαραίτητα μέτρα πρόληψης για τον COVID-19 από το Π.Ο.Υ. με σκοπό την προστασία του εαυτού μας άλλα και των γύρω μας απεικονίζονται χαρακτηριστικά στην παρακάτω εικόνα 8. Η χρήση μάσκας προστασίας, το συχνό πλύσιμο χεριών, το να κρατάμε αποστάσεις, βήχας και φτέρνισμα εντός του αγκώνα καθώς και ο καλός αερισμός αναφέρονται ως τα σημαντικότερα από τα μέτρα προστασίας.



Εικόνα 8: Μέτρα προστασίας για τον COVID-19 (W.H.O. 2020)

## **2.11 Διάγνωση SARS-CoV-2**

Όπως συμβαίνει γενικότερα με την επιτήρηση μεταδοτικών ασθενειών έτσι και στην περίπτωση του SARS-CoV-2 από όλες τις επιστημονικές ομάδες του πλανήτη ακολουθήθηκε μια συστηματική συλλογή στοιχείων συμπτωματολογίας, διεξαγωγή εργαστηριακών και ακτινολογικών εξετάσεων η ανάλυση και η ερμηνεία των όποιων κύριο στόχο έχει την διαφύλαξη της δημόσιας υγείας. Μετά την εμφάνιση της νόσου ο τρόπος παρακολούθησης αποτέλεσε η συμπτωματολογία του SARS-CoV-2 ως τρόπος της εξέλιξης της νόσου. Γρήγορα θεωρήθηκε ανεπαρκής ως τρόπος παρακολούθησης, λόγω του ευρέως φάσματος των συμπτωμάτων που ακολουθείται μετά την μόλυνση καθώς και του γεγονότος ότι σε πολλούς ανθρώπους δεν υπάρχει εκδήλωση συμπτωμάτων.

Τον Ιανουάριο του 2020 μελέτες μέτρησης με qPCR του RNA του SARS-CoV-2 σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα έλαβαν χώρα και έκτοτε αποτελούν χρήσιμο εργαλείο παρακολούθησης του SARS-CoV-2 (EOΔΥ,2022, WHO,2020).

Ένας άλλος τύπος επιτήρησης που χρησιμοποιείται είναι με την διενέργεια ορολογικών εξετάσεων. Αυτός ο τρόπος ανιχνεύει αντισώματα κατά του SARS-CoV-2 στο ορό του αίματος του εξεταζόμενου ατόμου. Αποτελεί μια τεχνική ανίχνευσης της ικανότητας δημιουργίας ανοσίας στον πληθυσμό που έχει μολυνθεί. Μετά την μόλυνση από τον ιό ακόλουθη η παραγωγή αντισωμάτων η όποια απαιτεί από λίγες ημέρες για την αυτών στο αίμα απαιτούν έως και αρκετές εβδομάδες, η ανίχνευση αντισωμάτων ορού μπορεί να χρησιμεύει και ως ένα αναδρομικό εργαλείο επιτήρησης.

Επιστήμονες, υγειονομικοί και δημόσιες αρχές δημιούργησαν εθνικά και παγκόσμια συστήματα επιτήρησης του επιπολασμού της νόσου ενώ χρησιμοποιούν δεδομένα από εργαστηριακά ευρήματα που συλλέγουν από άτομα με συμπτωματολογία του SARS-CoV-2. Τα δεδομένα από τα επιβεβαιωμένα κρούσματα συλλέγονται, χρησιμοποιούνται και ερμηνεύονται από τις δημόσιες αρχές και χρησιμοποιούνται ως βάση για τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τις πολιτικές ελέγχου του SARS-CoV-2, όπως η καραντίνα και τα κοινωνικά lockdown (eody, 2020, WHO,2020).

### **2.11.1 Ανίχνευση SARS-CoV-2 σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα**

Ο τρόπος ανίχνευσης του SARS-CoV-2 είναι από όλους γνωστός. Γνωρίζοντας ότι ο ιός σχετίζεται στενά με τα μέλη ενός ιικού είδους που ονομάζεται CoV προκαλώντας σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (SARS). Η ανθρωπότητα έχει αντιμετωπίσει ξανά το 2003 έναν ιό της οικογένειας CoV το οποίο προκαλεί σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (SARS). Τα εργαστήρια δημόσιας υγείας συντονίστηκαν άμεσα σε αυτήν την περίπτωση διεθνούς έκτακτων περιστατικών υγείας για την απομόνωση και τον εντοπισμό του ιού.

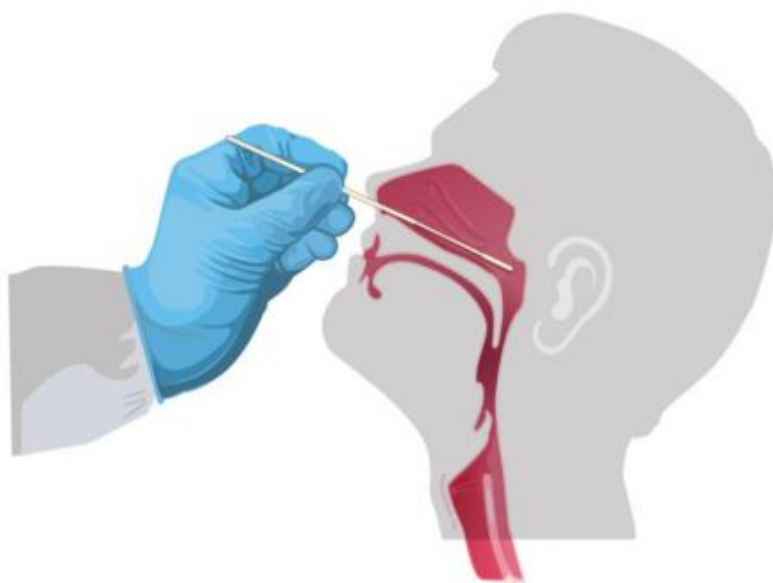
Στην περίπτωση της ανίχνευσης του SARS-CoV-2 χρησιμοποιήθηκε η PCR πραγματικού χρόνου ή RT-PCR.

Η RT-PCR αποτελεί χρήσιμο εργαλείο και χρησιμοποιείται ευρέως στη διαγνωστική ιολογία. Με την RT-PCR απομονώνεται ο ιός σε δείγματα που λαμβάνονται από ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (δείγματα ρινοφαρυγγικού και στοματοφαρυγγικού επιχρίσματος) μολυσμένων ασθενών.

Συμφωνά με τις οδηγίες για την εργαστηριακή διερεύνηση για το νέο κορωνοϊό SARS-CoV-2 του ΕΟΔΥ "τα κλινικά δείγματα που λαμβάνονται από το κατώτερο αναπνευστικό αναμένεται να έχουν υψηλότερη διαγνωστική αξία από δείγματα του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος". Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συστήνει στους επαγγελματίες υγείας την λήψη δειγμάτων από το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα, όπως πτύελα, ενδοτραχειακές εκκρίσεις ή βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, όταν είναι εφικτό (eody,2020).

### 2.11.2 Λήψη

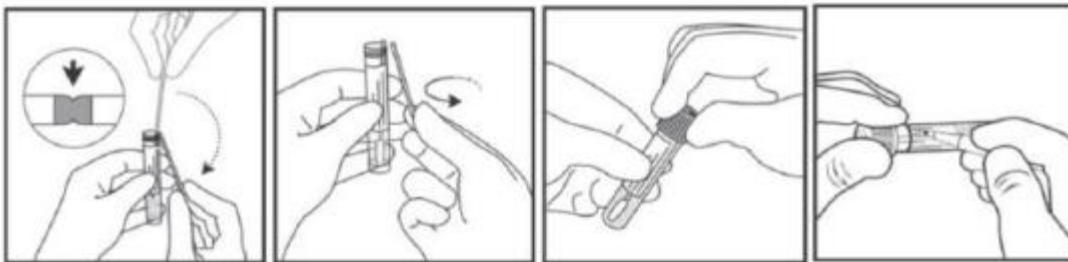
Η λήψη του ρινοφαρυγγικού γίνεται με ένα σπειλεό με λεπτό άκρο και εύκαμπτο εισάγοντάς το στο ένα ρουθούνι παράλληλα προς την υπερώα με φορά προς τα κάτω έως ότου συναντήσουμε αντίσταση ή έως ότου το μήκος του σπειλεού που έχει εισαχθεί να είναι ίσο με την απόσταση αφτιού μύτης. Στην εικόνα 9 που ακολουθεί γίνεται απεικόνιση της σωστής δειγματοληψίας ρινοφαρυγγικού επιχρίσματος.



Εικόνα 9: Λήψη ρινοφαρυγγικού για ανίχνευση SARS-CoV-2 (ΕΟΔΥ,2020).

Μετά την είσοδο του σπειλεού στο φάρυγγα ακολουθεί η συλλογή των εκκρίσεων οπου γίνεται με απαλό τρίψιμο ακλουθώντας λίγες περιστροφικές κινήσεις. Αφήνουμε τον σπειλεό για λίγα δευτερόλεπτα και τον απομακρύνουμε με αργές κινήσεις. Τον ίδιο σπειλεό μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε και για την συλλογή δείγματος κατά τον ίδιο τρόπο και στο άλλο ρουθούνι.

Αμέσως μετά την απομάκρυνση του σπειλεό από τον ρινοφάρυγγα το άκρο του σπειλεού που έχει συλλέξει το δείγμα με τις εκκρίσεις από τον εξεταζόμενο τοποθετείτε στο σωληνάριο με το υλικό μεταφοράς ιών. Σπάζετε ή κόβετε ο σπειλεός στο ύψος του λαιμού του σωληναρίου, αφήνοντας το άκρο στο σωληνάριο και σφραγίζεται το σωληνάριο. Για την συλλογή του δείγματος χρησιμοποιείται ένα kit τα στοιχεία που το περιλαμβάνουν εξαρτώνται την εταιρεία που χρησιμοποιείται. Στην εικόνα 10 αναφέρεται αναλυτικά η διαδικασία συλλογής και διαχείρισης του δείγματος ρινοφαρυγγικών επιχρισμάτων.



Εικόνα 10: Συλλογή ρινοφαρυγγικών επιχρισμάτων, περαιτέρω διαχείριση του δείγματος (ΕΟΔΥ,2020).

Ένας άλλος τρόπος συλλογής και ανίχνευσης του SARS-CoV-2 είναι η λήψη στοματοφαρυγγικού επιχρίσματος. Το δείγμα λαμβάνετε από το οπίσθιο τοίχωμα του φάρυγγα και τις αμυγδαλές, αποφεύγοντας την επαφή του σπειλεού με τη γλώσσα, τα δόντια και τα ούλα. Ακολουθώντας η τοποθέτηση του σπειλεό κατά τον ίδιο τρόπο που περιγράφεται παραπάνω στα σωληνάρια μεταφοράς ιών.

Μετά την συλλογή των ρινοφαρυγγικών ή στοματοφαρυγγικών επιχρισμάτων ακολουθεί η μεταφορά των σωληναρίων μεταφοράς ιών στο εργαστήριο η απομόνωση του ιικού RNA SARS-CoV-2 και η εφαρμογή αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με αντίστροφη μεταγραφή.



### 2.11.3 RT-PCR

Η συνεχόμενη αύξηση των κρουσμάτων και οι σωρεία νοσηλειών ανάγκασε τους επιστήμονες στην εύρεση μιας μεθόδου ανίχνευσης του ιού που απειλούσε την ανθρωπότητα. Στις 7 Ιανουαρίου του 2020 οι κινέζικες αρχές ανακοίνωσαν επίσημα την ύπαρξη του 2019-nCoV, ακλούθησε η ανακοίνωση ανεύρεσης γονιδιωμάτων από την Παγκόσμια Πρωτοβουλία για την Κοινή χρήση όλων των Δεδομένων Γρίπης (GISAID) στις 12 Ιανουαρίου, όπου επιβεβαιώνεται η παρουσία ενός ιού που σχετίζεται στενά με τα μέλη της οικογένειας CoV. Ο νέος αυτός ιός παρουσιάζει μεγάλη γονιδιακή ομοιότητα με τον προκάτοχο του SARS-CoV 2003 που σχετίζεται με το σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (Corman et. al, 2020).

Υπερκείμενα κυτταροκαλλιεργειών (πτύελα, φαρυγγικά, ρινικά, κόπρανα, ουρά), προσλαμβανόμενα από ασθενείς που νοσούσαν με σκοπό την ανίχνευση του ιού, εξετάστηκαν με την διαδικασία RT-PCR. Η RT-PCR έχει χρησιμοποιηθεί γενικότερα στην ανίχνευση ιών, όποτε επιλέχτηκε σαν μεθοδολογία ανίχνευσης του ιού.

Με την χρήση αλληλουχιών εκκινήτων και ανιχνευτών, πραγματοποιήθηκε θερμικός κύκλος της RT-PCR πραγματοποιείται στους 55 °C για 10 λεπτά για αντίστροφη μεταγραφή, ακολουθούμενος από 95 °C για 3 λεπτά και στη συνέχεια 45 κύκλοι των 95 °C για 15 δευτερόλεπτα, 58 °C για 30 δευτερόλεπτα (Corman, et. al 2020, Liu et. al, 2020).

Σε περίπτωση θετικού δείγματος εντοπίζονται τουλάχιστον δυο εκ των παρακάτω γονιδίων:

- **ORF1a/b** αποτελούν τις γονιδιακές σειρές που φέρουν την πληροφορία για την παραγωγή μη δομικών πρωτεϊνών.
- **S** στο οποίο οφείλεται η είσοδος του ιού στα ανθρώπινα κύτταρα.
- **N** στο οποίο οφείλεται η μεταφορά πληροφορίας για το σχηματισμό της πρωτεΐνης του νουκλεοκαψιδίου.

Η ανίχνευση των παραπάνω γονιδίων ώστε να θεωρηθεί θετικό το αποτέλεσμα στην RT-PCR θα πρέπει να γίνει στους 37 κύκλους (Ct), εάν ολοκληρωθούν οι 40 κύκλοι της μεθόδου έχουμε αρνητικό αποτέλεσμα (Corman, et. al 2020, Liu et. al, 2020).

### 2.11.4 Ανίχνευση αντισωμάτων SARS-CoV-2

Τον Δεκέμβριο του 2020 Εθνικό Ινστιτούτο Βιολογικών Προτύπων και Ελέγχου (NIBSC) σε συνεργασία με τον ΠΟΥ καθιέρωσαν το διεθνές πρότυπο για την μέτρηση αντισωμάτων anti-SARS-CoV-2. Η διαθεσιμότητα ενός διεθνούς προτύπου (IS) για την μέτρηση αντισωμάτων που θα διευκόλυne όχι μονό στην τυποποίηση διεξαγωγής των ορολογικών αναλύσεων ανιχνεύσεις αντισωμάτων, άλλα και στην μείωση της

διεργαστηριακής μεταβλητότητας. Αποτελώντας κύριο ζητούμενο εν όψη της κυκλοφορίας των νέων εμβολίων που θα ξεκινούσαν. Συντάχτηκε μια ομάδα σκοπός της οποίας αποτέλεσε η αξιολόγηση η καταλληλότητα τεχνικών ανίχνευσης IS για αντίσωμα σε ορό η πλάσμα κατά του SARS-CoV-2. Συμμετείχαν 51 εργαστήρια χρησιμοποιώντας μια μεγάλη γκάμα εργαστηριακών μεθόδων μεταξύ των οποίων: ELISA, δοκιμών εξουδετέρωσης, κυτταρομετρία ροής, ανοσοδοκιμασίες πλευρικής ροής, ανασταλτικές δοκιμασίες και μία Δοκιμασία Διπλής Δέσμευσης Αντιγόνου (WHO, 2020).

Η συγκριμένη διαδικασία ήταν και το άνωμα διεξαγωγής ανίχνευσης ορολογικών ανοσοσφαιρινών IgG, IgM, IgA έναντι του SARS-CoV-2. Τα κοινότερα αντιγόνα ανίχνευσης των δοκιμών αποτελούν η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη Spike (S) και η περιοχή δέσμευσης υποδοχέα (RBD) αποτέλεσαν κοινότερο αντιγόνο ανίχνευσης, ακολουθούμενη από την υπομονάδα (S1) (WHO, 2020).

Σαν δευτερεύοντα χρησιμοποιήθηκαν η νουκλεοπρωτεΐνη (N), η πρωτεΐνη μεμβράνης (M) και φακέλου (E), και η υπομονάδα (S2) (WHO, 2020).

Η διαδικασία ανίχνευσης αντισωμάτων anti- SARS-CoV-2 διεξάγεται πλέον παγκόσμιος ενώ η πιθανή συμβολή της καταγραφής των αποτελεσμάτων της διαδικασίας στην επιτήρηση των υγειονομικών αρχών για την εξέλιξη της πανδημίας ή την ενδεχόμενη επανεμφάνιση κρουσμάτων ως μέτρο πρόληψης δεν αποκλείεται (WHO, 2020).

## 2.12 Μεταλλάξεις SARS-CoV-2

Ο SARS-CoV-2 όπως συμβαίνει με όλους τους ιούς αλλάζει το γονιδίωμα του με την πάροδο του χρόνου ενώ οι μεταλλάξεις που εμφανίζει προκαλούν ανησυχία λόγω της γρήγορης εξάπλωσης τους.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει ορίσει τα γράμματα της ελληνικής αλφαβήτου να ονοματοδοτηθούν οι μεταλλάξεις αυτές.

Από τον Δεκέμβριο του 2019 έως και σήμερα έχουν εμφανιστεί οι ακόλουθες μεταλλάξεις:

**Alpha (B.1.1.7 lineage):** Η μετάλλαξη άλφα εντοπίστηκε πρώτη φορά στο Ηνωμένο Βασίλειο στα τέλη του 2020. Το γονιδίωμα εμφάνισε περίπου 12 με τις περισσότερες να έχουν συμβεί στην πρωτεΐνη ακίδα S του ιού. Μεταδόθηκε γρήγορα σε όλο τον κόσμο, θεωρήθηκε 50-70% πιο μεταδοτική σε σχέση με τα προηγούμενα στελέχη του ιού, εμφανίζοντας σοβαρή κλινική εικόνα (ECDC, 2021).

**Beta (B.1.351 lineage):** Το τέλος του 2020 εμφανίστηκε επίσης και η μετάλλαξη βήτα, ο εντοπισμός της οποίας έγινε στην Νοτιά Αφρική. Η μετάλλαξη Β διαφέρει σε σχέση με την μετάλλαξη άλφα κρατώντας όμως αρκετές τις μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη ακίδας S. Παρουσίασε ισχυρή μεταδοτικότητα και κυριάρχησε από τους προηγούμενες μεταλλάξεις (ECDC, 2021).

**Gamma (P.1 lineage):** Η μετάλλαξη Γάμμα εντοπίστηκε πρώτη φορά στην Ιαπωνία σε ταξιδιώτες προερχόμενους από Βραζιλία και η Βραζιλία θεωρήθηκε χώρα προέλευσης της συγκεκριμένης μετάλλαξης. Μεταδόθηκε σε πολλές χώρες, παρουσιάζει αρκετές μεταλλάξεις, οι τρεις των οποίων εντοπίζονται στην πρωτεΐνη ακίδας S (ECDC, 2021).

**Delta (B.1.617.2 lineage):** Η μετάλλαξη Δέλτα εντοπίστηκε στην Ινδία τον Δεκέμβριο του 2020, είναι εξαιρετικά μεταδοτική, έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση υψηλής και σοβαρής νοσηρότητας και την αύξηση της νοσηλείας (ECDC, 2021).

**Omicron (B.1.1.529 lineage):** τελευταία έχουμε την μετάλλαξη Όμικρον η οποία εντοπίστηκε τον Νοέμβριο του 2021 στην Μποτσουάνα της Νοτίου Αφρικής. Στην Όμικρον υπάρχουν περισσότερες από 30 μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη ακίδας S, μεταλλάξεις που συσχετίζονται με την αυξημένη μεταδοτικότητα της νόσου. Η Όμικρον εκτιμάται ότι εμφανίζει χαμηλότερη νοσηρότητα (ECDC, 2021).

## 2.13 Εμβόλια

Τα εμβόλια που χρησιμοποιούνται στην ΕΕ προς χρήση των πολιτών της είναι:

- Comirnaty (από την εταιρεία BioNTech/Pfizer)
- Spikevax (από την εταιρεία ModernaTX, Inc.)
- Vaxzevria (από την εταιρεία Oxford/AstraZeneca)
- COVID-19 Vaccine Janssen (από την εταιρεία Janssen-Cilag International NV)
- NuvaXovid (από την εταιρεία Novavax, το οποίο είναι επίσης γνωστό ως NVX-CoV2373) (ECDC, 2021), (ECDC, 2021).

Παρότι τα αναφερόμενα δημιουργήθηκαν σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, έχουν εγκριθεί από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (EMA), ο οποίος μαζί με τις υγειονομικές αρχές των χωρών που γίνεται η χρήση τους παρακολουθούν την διεξαγωγή και την μετέπειτα πορεία του εμβολιασμού και την εμφάνιση παρενεργειών.

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψης και Ελέγχου Νοσημάτων (ECDC) ο εμβολιασμός κατά του COVID-19 ωφέλει:

1. στην πρόληψη της νόσου με ανάπτυξη αντισωμάτων στο σύνολο των εμβολιασθέντων.
2. στην μείωση του αριθμού των ατόμων που θα μολυνθούν
3. στην μείωση του αριθμού των σοβαρών επιπτώσεων της ασθένειας καθώς και του αριθμού των θανάτων τη σοβαρότητα της νόσου εάν προσβληθεί.

## Κεφάλαιο 3

### Επιτήρηση λυμάτων

#### 3.1 Γενικά για την επιτήρηση λυμάτων

Η επιτήρηση λυμάτων ή αλλιώς επιδημιολογία με βάση τα λύματα (WBE) χρησιμοποιείται εδώ και χρόνια, για τον εντοπισμό παρουσίας φαρμακευτικών και βιομηχανικών αποβλήτων, φαρμάκων, ιών και βακτηρίων άλλα και μικροοργανισμών που εμφανίζουν ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά στα λύματα. Αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο που σκοπός του είναι η συλλογή πληροφοριών σε πραγματικό χρόνο. Οι μετρήσεις βιολογικών ή χημικών ουσιών (βιοδεικτών) παρέχουν πληροφορίες για την αξιολόγηση του τρόπου ζωής, υγείας και την παρακολούθηση της δημόσιας υγείας (score).

Συμφώνα με το score το οποίο αποτελεί πλατφόρμα συγκεντρωτικών δεδομένων μετρήσεων των λυμάτων, στα λύματα εμπεριέχεται τεράστιος αριθμός βιοδεικτών που αντικατοπτρίζουν την κατάσταση της υγείας ολόκληρης της κοινωνίας. Οι βιοδείκτες είτε παράγονται από τον ανθρώπινο οργανισμό (απέκκριση μικροβίων, ιών, ορμονών κ.α.) είτε απεκκρίνονται από τον άνθρωπο προέρχονται έξω από τον ανθρώπινο οργανισμό (παράνομες ουσίες, φάρμακα, περιβαλλοντικοί ρύποι κ.α.) (score).

Στα λύματα αντικατοπτρίζονται οι διατροφικές συνήθειες καθώς περιέχουν υπολείμματα τροφών, η κατανάλωση καπνού, φαρμάκων και παράνομων ουσιών και η παρουσία κάποιας μικροβιακής ή ιολογικής λοίμωξη στην περιοχή την οποία συλλέγονται. Οι άνθρωποι χρησιμοποιώντας την τουαλέτα για να αφοδεύσουν, να ουρήσουν ή το νερό που χρησιμοποιούν για μπάνιο ή για το πλύσιμο χεριών, ρούχων κ.α. παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες στους επιστήμονες που ασχολούνται με τις μετρήσεις λυμάτων παρέχοντας τους πληροφορίες για την υγεία της κοινότητας (score).

Η παρακολούθηση ιικού φορτίου στα αστικά λύματα ξεκίνησε με την παρακολούθηση της εξέλιξης του ιού της πολιομυελίτιδας, ο οποίος προκαλεί οξεία χαλαρή παράλυση, σαν πρόγραμμα εκρίζωσης της πολιομυελίτιδας των Ηνωμένων Εθνών από το 1988. Η επιτήρηση των λυμάτων του ιού της πολιομυελίτιδας βασίζεται στα χαρακτηριστικά των λοιμώξεων από ιούς της πολιομυελίτιδας. Περισσότεροι από το 95% των ατόμων που έχουν μολυνθεί από ιό πολιομυελίτιδας δεν αναπτύσσουν καθόλου ή αναπτύσσουν ήπια γαστρεντερικά συμπτώματα, εκκρίνοντας μεγάλους αριθμούς του ιού στα κόπρανα για μεγάλες χρονικές περιόδους που διαρκούν έως και αρκετές εβδομάδες ενώ σωματίδια του ιού παραμένουν ανιχνεύσιμα και μολυσματικά στα λύματα από μέρες έως εβδομάδες. Η επιτήρηση των λυμάτων για τον ιό της πολιομυελίτιδας έχει χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της έκτασης της μόλυνσης μιας κοινότητας ενώ έχει χρησιμοποιηθεί και ως έγκαιρη προειδοποίηση διασποράς του ιού. Η επιτήρηση του ιού της πολιομυελίτιδας χρησιμοποιείται και στις μέρες μας σε χώρες όπως Ινδία,

Αίγυπτο, Ολλανδία, Φινλανδία, Ισραήλ, Βραζιλία, Κίνα κ.α. (Fong & Lipp , 2020, Rusiñol&Girones,2017, La Rosa, et, all, 2012, Gall et all 2015).

Την δεκαετία του 1990 χρησιμοποιήθηκε από περιβαλλοντικούς επιστήμονες για την μέτρηση αρχικά φαρμακευτικών προϊόντων σε λίμνες και ποταμιά και εξελίχθηκε σε έναν κλάδο που συλλέγει εδώ και χρόνια δεδομένα που σχετίζονται με την δημόσια υγεία (Larsen & Wigginton 2020).

Η WBE έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για την ανίχνευση και την έγκαιρη προειδοποίηση εστιών για εντερικούς ιούς όπως ο νοροϊός, ο ιός της ηπατίτιδας Α, ιός ηπατίτιδας Ε και ο Αδενοϊός. Όπως ο ιός της πολιομυελίτιδα και αυτοί οι ιοί απεκκρίνονται σε υψηλούς τίτλους με τα κόπρανα στα λύματα και είναι ικανοί να μολύνουν τα αποθέματα νερού, και να δημιουργούν συνεχώς νέες εστίες μόλυνσης. Άτομα που έχουν προσβληθεί από αυτούς αποβάλλουν μεγάλες ποσότητες ιού στα κόπρανα για μέρες ή εβδομάδες, πριν αλλά και μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Με αποτέλεσμα ακόμη και μικρή ομάδα νοσούστων να δίνει στοιχεία στις μετρήσεις των λυμάτων από μολύνσεις ίων που προσβάλλουν το γαστρεντερικό σύστημα. Τα δεδομένα αυτά είναι που έχουν συντελέσει στην επιτήρηση των λυμάτων για τους συγκεκριμένους ιούς.

Κατά την εμφάνιση της πανδημίας, μελέτες επιστημόνων απέδειξαν την απέκκριση του ιού με τα κόπρανα σε ποσοστό ικανό να μετρηθεί αλλά μη ικανό να μολύνει τους χείριστες των συγκεκριμένων δειγμάτων. Χρησιμοποιώντας αυτές τις πληροφορίες συντάθηκαν ομάδες ανά τον κόσμο με στόχο τους την παρακολούθηση και την καταγραφή δεδομένων που λάμβαναν από τις μετρήσεις λυμάτων.

### **3.2 Μέτρηση ιικού RNA SARS-CoV-2 στα λύματα**

Η επιτήρηση λυμάτων ή επιδημιολογία με βάση τα λύματα μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εργαλείο για τη διερεύνηση και ανίχνευση του SARS-CoV-2, αλλά και άλλων παθογόνων όπως ο ιός της πολιομυελίτιδας, νοραιοί κ.α. που μπορεί να αναπυχθούν μέσα σε μια κοινότητα ώστε να προετοιμαστεί η πολιτεία με λήψη μέτρων ελέγχου.

Πολλές είναι οι μελέτες που αποδεικνύουν την συσχέτιση της εμφάνισης ιικού RNA στα λύματα μιας λεκάνης απορροής και της εμφάνισης κλινικών περιπτώσεων στην περιοχή που συνδέεται με την συγκεκριμένη λεκάνη.

Βάση της επιτήρησης των λυμάτων αποτέλεσαν οι μελέτες ανίχνευσης του ιού σε κόπρανα και ούρα ασθενών με SARS-CoV-2. Η παρουσία ασυμπτωματικών ή ήπια συμπτωματικών ή ασθενών από SARS-CoV-2, που δεν δοκιμάζονται κλινικά για την καταγραφή της νόσησης αποτελεί εμπόδιο στην ικανότητα παρακολούθησης της εξέλιξης της πανδημίας. Αναφορικά με πρόσφατες μελέτες σε ποσοστά 27% έως 89% των ασθενών με μόλυνση από SARS-CoV-2 αποβάλλουν στα κόπρανα τους RNA του ιού (Bivins et. al. 2020).

Η μέτρηση του ιικού RNA SARS-CoV-2 στα λύματα υπερνικά όλα τα εμπόδια καθώς η απέκκριση του ιού στα κόπρανα, στο σάλιο, στα πύελα και στα ούρα ανθρώπων που νοσούν, καταλήγουν στο αποχετευτικό αποτελεί μια φυσιολογική διαδικασία. Η μέτρηση είναι αντιπροσωπευτική για την εξέλιξη της μετάδοσης σε μια κοινότητα.

Αξίζει να σημειωθεί η ευαισθησία της ανίχνευση του RNA του SARS-CoV-2 στα λύματα διότι ακόμη και ένα ενεργά μολυσμένο άτομο στη λεκάνη απορροής που εξυπηρετείται από το αποχετευτικό σύστημα μπορεί να ανιχνευτεί. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει την σπουδαιότητα της μέτρησης του ιικού φορτίου RNA του SARS-CoV-2 στα λύματα καθώς συμπεριλαμβάνει όλες τις ομάδες που αφορούν την συμπτωματολογία που προκαλεί ο ιός ακόμη και τους ασυμπτωματικούς ώστε να προετοιμαστεί το υγειονομικό σύστημα για τα άτομα που θα προκύψουν για νοσηλεία. Επίσης προειδοποιεί έγκαιρα την πολιτεία για την εξέλιξη της εξάπλωσης του ιού.

Η πρώτη μελέτη ανίχνευσης ιικού RNA του SARS-CoV-2 στα λύματα έγινε από την ερευνητική ομάδα S. Wurtzer, (Απρίλιος 2020), στην Αυστραλία με την ανίχνευση RNA του SARS-CoV-2 και την αξιολόγηση της επιδημιολογικής κατάστασης με βάση τα λύματα.

Ακολούθησε δεύτερη μελέτη στην Ολλανδία. Δείγματα λυμάτων 7 πόλεων και αεροδρομίου ελεγχτήκαν για την ανίχνευση ιικού RNA του SARS-CoV-2. Στην μελέτη Medema et al. (2020) ανιχνευτήκαν με την χρήση RT-PCR ιικά θραύσματα του γονιδίου πρωτεΐνης N και της πρωτεΐνης φακέλου E του SARS-CoV-2 στα λύματα και στόχο είχε τον εντοπισμό ιικού RNA πριν την εκδήλωση κλινικών περιπτώσεων.

Πολλές μελέτες ακολούθησαν από διαφορετικές από χώρες όπως Ιαπωνία, Ιταλία, Η.Π.Α., Κίνα κ.α. για την ανίχνευση του ιικού RNA στα λύματα.

Αξίζει να αναφερθεί ότι η ανίχνευση ιικού RNA του SARS-CoV-2 στα λύματα δεν έχει σχετιστεί με την δυνατότητα μόλυνσης των ατόμων που τα διαχειρίζονται και των ατόμων που έρχονται σε επαφή μετά αυτά όπως έχει αναφερθεί έως τώρα.

### **3.3 Πλεονεκτήματα μετρήσεων SARS-CoV-2 στα λύματα κατά την διάρκεια της πανδημίας.**

Η επιτήρηση των λυμάτων μπορεί να έχει πολλά ωφέλει. Αποτελεί έναν οικονομικό τρόπο ελέγχου επιτήρησης της διασποράς μέσα στην κοινότητα σε μικρό χρονικό διάστημα παρέχοντας πληροφορίες που αντικατοπτρίζουν τις τάσεις δημιουργίας εστιών μέσα στην κοινότητα, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί αντί της διεξαγωγής τεστ των ίδιων των πολιτών μια διαδικασία δαπανηρή και χρονοβόρα. Ο συνδυασμός μετρήσεων λυμάτων και διεξαγωγή τεστ από τον πληθυσμό αποτελεί τον καλύτερο τρόπο πρόληψης και περιορισμού της πανδημίας (Hamouda et. all,2021).

Συλλέγει πληροφορίες για ολόκληρη περιφέρεια όπου τα λύματα τους καταλήγουν στην συγκεκριμένη λεκάνη απορροής, παρέχοντας χρήσιμες πληροφορίες σε πραγματικό χρόνο, στους υπεύθυνους δημόσιας υγείας για τον επιπολασμό μιας νόσου. Μελέτες

έδειξαν ότι η παρουσία RNA του SARS-CoV-2 στα κόπρανα προηγείται της εμφάνισης συμπτωμάτων από λίγες ημέρες έως μιας εβδομάδας, καθιστώντας την συγκεκριμένη μέθοδο τον καλύτερο τρόπο έγκαιρης προειδοποίησης των αρχών (Hamouda et. all,2021).

Η ανίχνευση ιικού RNA του SARS-CoV-2 μπορεί να χρησιμοποιηθεί μεταγενέστερα της πανδημίας για την υπόδειξη επανεμφάνιση του ιού σε μια λεκάνη απορροής ώστε να ακολουθηθεί εκ νέου μια πολιτική υπόδειξης των νέων εστιών και εκτελεστούν μέτρα περιορισμού και απομόνωσης των μολυσμένων ατόμων. Με αυτόν τον τρόπο έγκαιρης προειδοποίησης πολίτες που μπορεί να εμφανίσουν έστω και ήπια συμπτώματα θα ενεργοποιηθούν όσον αφορά την διεξαγωγή κλινικών δοκιμών (Hamouda et. all,2021).

### **3.4 Μέτρηση ιικού φορτιού**

Κατά την διάρκεια της πανδημίας στην Ελλάδα, άλλα και σε πολλά άλλα κράτη, έχουν διεξαχθεί πολλαπλές έρευνες με βάση την μέτρηση των λυμάτων. Στόχος των ερευνών υπήρξε η ποσοτική μέτρηση των λυμάτων για την επιτήρηση του SARS-CoV-2, ο προσυμπτωματικός ή ασυμπτωματικός έλεγχος υπόπτων κρουσμάτων και η έγκαιρη προειδοποίηση των αρχών και την λήψη περιοριστικών μέτρων περιοχών, άλλα και τον έλεγχο των επιπτώσεων σε κοινοτικό επίπεδο των μέτρων που εξήφθησαν.

Παρότι οι έρευνες αυτές έχουν επιβεβαιώσει την παρουσία ιικού RNA στα λύματα μιας λεκάνης απορροής, οι συσχετίσεις με τις εμφάνισης κλινικών περιπτώσεων στην περιοχή που συνδέεται με την συγκεκριμένη λεκάνη έχουν δημιουργήσει προβληματισμούς, διότι παρουσίασαν μεγάλες διακυμάνσεις.

Οι διακυμάνσεις αυτές οφείλονται:

- Στην μη σωστή διαδικασία λήψης (συμπεριλαμβανομένης της τοποθεσίας και της συχνότητας συλλογής) των λυμάτων προς μέτρηση.
- Την συχνότητα δειγματοληψιών.
- Στον τρόπο συντήρησης των δειγμάτων έως την διαδικασία μέτρησης.
- Στην χρήση διαφορετικών υλικών.
- Στην χρήση διαφορετικών πρωτοκόλλων.
- Στην μη τήρηση ποιοτικού ελέγχου.
- Στην βραχυπρόθεσμη μέτρηση των δεδομένων.
- Στον τρόπο διαχείρισης των δειγμάτων.
- Στην χρήση διαφορετικών μεθόδων ανάλυσης.
- Στην χρήση διαφορετικών μοντέλων ποσοτικοποίησης και συσχέτισης.  
(Hamouda et. all,2021)

Πέραν από τις προαναφερόμενες διακυμάνσεις που έχουν να κάνουν με την λειτουργία της συλλογής και της ανάλυσης των λυμάτων οι ερευνητές και οι υπεύθυνοι της διαχείρισης της πανδημίας έχουν να αντιμετωπίσουν κοινωνικά φαινόμενα όπως η αντίδραση στην διεξαγωγή τεστ που αποδίδεται στην κοινωνική κόπωση από τα μέτρα

που έχουν ληφθεί κατά την διεξαγωγή των lockdown. Η διεξαγωγή διαγνωστικών δοκιμών περιορίζεται επίσης λόγω του οικονομικού τους κόστους τους καθώς πολλοί καταφεύγουν σε ιδιωτικά διαγνωστικά και η έξαρση της πανδημίας δημιουργεί συνεχώς ανάγκες εκ νέου διεξαγωγής. Άλλο ένα σημείο που πρέπει να αναφερθεί το οποίο παρατηρήθηκε στην αρχή της πανδημίας, αποτελεί ο φόβος του κοινωνικού αποκλεισμού και του στιγματισμού που περιόρισε τον εντοπισμό των συγκεκριμένων κρουσμάτων (Hamouda et. all,2021).

Επιπρόσθετα προβληματισμούς έχει προκαλέσει και η ανάλυση των δεδομένων που συλλέγονται καθώς και η απόδοση τους σε ποσοτικοποίηση. Οι προβληματισμοί αυτοί δημιουργήθηκαν λόγω της συνεχείας απόκρισης του ιικού φορτίου στα κόπρανα ακόμη και μετά από αρνητικά αποτελέσματα των ρινοφαρυγγικών επιχρισμάτων. Επιπλέον οι πολλαπλές έρευνες με διαφορετικό χρόνο ημιζωής του απεκκρινόμενου ιικού φορτίου προβληματίζει όσον αφορά την δημιουργία μεταβλητών, την χρονική υστέρηση της μέτρησης και των μεθόδων ανάλυσης ώστε να υπάρχει έγκαιρη προειδοποίηση των αρχών και προετοιμασία των υποδομών υγειονομικής περίθαλψης. Αναφορικά σημειώνεται μια μικρή λίστα των διαφορών σε μελέτες (Hamouda et. all,2021).

Η μελέτη Medema et al. (2020) έδειξε μια χρονική καθυστέρηση 6 ημερών πριν την εμφάνιση νέων θετικών κρουσμάτων σε πόλεις τις Ολλανδίας χρησιμοποιώντας μια γραμμική συσχέτιση καταγεγραμμένων κρουσμάτων/ αντιγράφων ιικού RNA στα λύματα.

Στην μελέτη Peccia et al., 2020 αναφέρεται ότι η μέτρηση ιικού φορτίου RNA έχει υποδείξει θετικά κρούσματα 0-2 ημέρες πριν την διεξαγωγή διαγνωστικών τεστ, 1-4 ημέρες πριν τις εισαγωγές σε νοσοκομεία και έχουν υποδείξει 6-8 ημέρες πριν την αναφορά νέων θετικών καταγραφών. Σε αυτήν την έρευνα η περίοδος ανάδειξης της μίας εβδομάδος 6-8 ημερών αφορά περιοχές όπου τα αποτελέσματα μετά την διεξαγωγή τεστ δίνονται 1-2 ημέρες αργότερα από την ημέρα διεξαγωγής.

Οι Wurtzer et al., 2020 συσχέτισαν την εμφάνιση νέων κρουσμάτων COVID-19, με τις εμφανίσεις ιικού φορτίου στα λύματα σε εμφάνιση 4-10 ημερών νωρίτερα της εμφάνισης κρουσμάτων.

Οι Galani et. All, 2021, στην μελέτη για την επιτήρηση των λυμάτων και την αξιοποίηση για προβλέψεις νοσηλειών ο χρόνος υστέρησης για νέες νοσηλείες στην μελέτη ήταν 5, 8, και 9 ημέρες.

Στην μελέτη Kaplan et al., 2021 ως χρόνος υστέρησης της συσχέτισης είναι οι 3-5 ημέρες ως αντιπροσωπευτικές ημέρες εμφανίσεις κλινικών εκδηλώσεων και αναζήτησης ιατρικής φροντίδας.

Η μελέτη Huisman et al., 2021 ανέφερε μια χρονική καθυστέρηση 4-9 ημερών της μέτρησης ιικού φορτίου RNA στα λύματα σε σύγκριση με την εμφάνιση των καταγραφών των κρουσμάτων και την αναζήτηση κλινικής φροντίδας. Σε αυτή την μελέτη αναπτύχθηκε και ένα υπολογιστικό μοντέλο προσαρμογής κλινικών εμφάνισης δεικτών και ιικού φορτίου στα λύματα.



Η διαφορές που παρατηρούνται στον υπολογισμό του χρόνου υστέρησης μεταξύ της ανίχνευσης του ιικού RNA στα λύματα και την εμφάνιση των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου μπορεί να οφείλεται:

- Σε διαφορετικούς τρόπους δειγματοληψίας λυμάτων
- Σε διαφορετικές αναλυτικές προσεγγίσεις στις μελέτες.
- Στην διεξαγωγή η μη διαγνωστικών τεστ για επιβεβαίωση της λοίμωξης.
- Στην καταγραφή και δήλωση των κρουσμάτων την ίδια η διαφορετική ημέρα από την διεξαγωγή των διαγνωστικών τεστ (Hamouda et. all,2021).

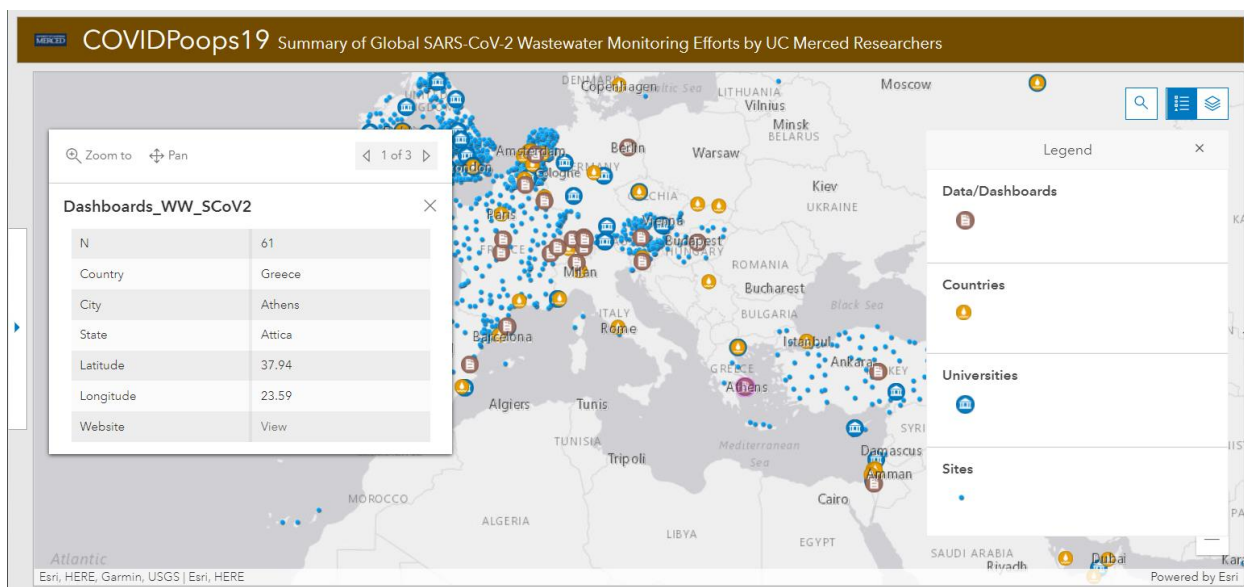
Η μεγάλη αυτή λίστα δημιούργησε αβεβαιότητα και οδήγησε στην αναγκαιότητα της συστηματικής εναρμόνισης και επικύρωσης των μεθοδολογιών μεταξύ ερευνητικών ομάδων που ασχολούνται με τις μετρήσεις λυμάτων. Η συνεργασία ερευνητών διεθνώς ώστε να επιλύσουν τα ζητήματα που είχαν προκύψει και να αναπτυχθούν μέθοδοι και μοντέλα αξιολόγησης του δημόσιου κίνδυνου κρίθηκε απαραίτητη.

Με κοινό χαρακτηριστικό την αναγκαιότητα διενέργειας μεθοδολογιών που να είναι λειτουργικοί για την αξιολόγηση της έκτακτης βιολογικής απειλής όλου του πλανήτη δημιουργήθηκε μια βάση δεδομένων που συντονίζει και δημοσιεύει τις ερευνητικές προσπάθειες που αφορούν την επιδημιολογική κατάσταση. Η συνεργασία προέκυψε με την συμβολή του Sewage Analysis Core Group Europe (SCORE) και του Global Water Pathogen Project, δημιουργώντας το COVID-19 WBE Collaborative.

Η αναζήτηση των στοιχείων γίνεται στην ιστοσελίδα <https://www.covid19wbec.org/>.

Τα κράτη μέλη της ευρωπαϊκής ένωσης όπως και άλλα κράτη, με αναφορές από 2600 τοποθεσίες ανά τον κόσμο από έρευνες που ήδη έχουν δημοσιεύσει ή πρόκειται να δημοσιευτούν, ανέπτυξαν διεθνώς μια συνεργασία όπου γίνεται διαμοιρασμός όλων των επιστημονικών πληροφοριών που προκύπτουν από έρευνες για τον SARS-CoV-2 στον ιστότοπο. Οι αναφορές οπτικοποιούνται σε δυναμικούς και ενημερωμένους χάρτες και η αναζήτηση ανά έρευνα γίνεται εύκολα με την επιλογή αυτής πάνω στην χώρα που έχει λάβει χώρα.

Στην εικόνα 11 που ακολουθεί με την χρήση του προγράμματος arcgis παρατίθενται συγγράμματα των παγκόσμιων προσπαθειών παρακολούθησης λυμάτων SARS-CoV-2 από ερευνητές αναλυτικά με συγγράμματα ανά χώρα, μέρος των ερευνών κ.α.



Εικόνα 11 : Σύνοψη των παγκόσμιων προσπαθειών παρακολούθησης λυμάτων SARS-CoV-2 από ερευνητές.

<https://www.arcgis.com/apps/dashboards/c778145ea5bb4daeb58d31afee389082>

### 3.5 Επιτήρηση λυμάτων και Ευρωπαϊκή Ένωση

Στις 17 Μαρτίου του 2021 έγιναν γνωστές και οι συστάσεις της Ευρωπαϊκής Επιτροπής σχετικά με μια κοινή προσέγγιση για την καθιέρωση συστηματικής επιτήρησης του SARS-CoV-2 και των παραλλαγών του στα λύματα στην ΕΕ.

Την 11 Νοεμβρίου 2020, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή προτείνει τη σύσταση Γραφείου Ετοιμότητας για την Υγεία Έκτακτης Ανάγκης (HERA), σκοπός της σύστασης του αποτελεί η προετοιμασία για την αντιμετώπιση αναδυόμενων νέων διασυννοριακών απειλών για την ανθρώπινη υγεία στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα.

Η εφαρμογή του «HERA Incubator», έλαβε χώρα την 17 Φεβρουαρίου 2021 με αφορμή της αύξησης των μεταλλάξεων του SARS-CoV-2. Οι νέες μεταλλάξεις εμφάνισαν μεγάλη μεταδοτικότητα προκαλώντας την σοβαρή ασθένεια στους νοσούντες και μεγάλα ποσοστά θανάτων. Η επιτήρηση λυμάτων για μετρήσεις ιικού RNA SARS-CoV-2 στα λύματα δίνει έναν γρήγορο τρόπο εντοπισμού μολυσμένων ατόμων μέσα σε μια λεκάνη απορροής ενώ είναι ικανοί να εντοπίσει και τυχόν μεταλλάξεις του ιού.

Οι επιτήρηση λυμάτων σύμφωνα με την ΣΥΣΤΑΣΗ (ΕΕ) 2021/472, αποτελεί συμπληρωματικό εργαλείο προσέγγισης της επιτήρησης της εξέλιξης της νόσου, ενώ απαραίτητο κρίνεται η επιτήρηση λυμάτων να συνεργατεί με τις ανιχνεύσεις των διαγνωστικές μοριακές δοκιμές ρινοφαρυγγικών δειγμάτων και την μέτρηση αντισωμάτων ώστε να βοηθηθούν οι υγειονομικές αρχές της Ένωσης.

Η προσέγγιση της επιτήρησης λυμάτων ως συμπληρωματικό εργαλείο και όχι ανεξάρτητο για την διαχείριση της υγειονομικής κατάστασης του πλανήτη αναφέρθηκε και τον Νοέμβριο του 2020 από τον Π.Ο.Υ.

Εμπειρογνώμονες αποφάσισαν ότι η επιτήρηση των λυμάτων αποτελεί εργαλείο παρακολούθησης των τάσεων και όχι απολυτό εργαλείο επιτήρησης της δημόσιας υγείας και επ' ουδενί λόγου δεν αντικαθιστά τις κλινικές δοκιμές. Μπορεί παρόλα αυτά να χρησιμοποιηθεί για πρόληψη και ως εργαλείο έγκαιρη προειδοποίηση σε πιθανή επανεμφάνιση του ιού στις κοινότητες.

Για να είναι αποδεκτά τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την επιτήρηση των λυμάτων κρίθηκε απαραίτητο η κοινή χρήση μεθόδων δειγματοληψίας, μέτρησης και ανάλυσης διότι αποτελούν τα μέσα για την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των μετρήσεων και την χρήση των δεδομένων αυτών για την προστασία της δημόσιας υγείας των ευρωπαϊκών πολιτών.

Η σύσταση ακολουθητέ με μια πρόταση αναγκαιότητας δημιουργίας μιας ενιαίας πανευρωπαϊκής πλατφόρμας που θα συντελέσει στην ανταλλαγή βέλτιστων τεχνικών παρακολούθησης των λυμάτων και παρακολούθησης όχι μόνο της τρέχουσας πανδημίας άλλες και στην εμφάνιση νέων επιδημιών η πανδημιών από άλλους λοιμογόνους παράγοντες.

Κοινός στόχος όλων των κρατών μελών είναι η παρακολούθηση των λυμάτων ως εργαλείο επιτήρησης και διαχείρισης της εξέλιξης της πανδημίας άλλα και την συλλογή στοιχείων για την εμφάνιση και εξάπλωση μεταλλάξεων του SARS-CoV-2 με στόχο την προστασία της ανθρωπίνης υγείας των Ευρωπαϊκών Πολιτών.

Βασικές υποχρεώσεις των κρατών μελών είναι:

Η γρήγορη σύσταση εθνικών συστημάτων εποπτείας των λυμάτων.

- Η εποπτεία να αφορά μεγάλο αντιπροσωπευτικό πληθυσμό. Η παρακολούθηση σε πόλεις άνω των 150 χιλιάδων κατοίκων θα πρέπει να πραγματοποιούνται 2 φορές την εβδομάδα το ελάχιστο.
- Η δειγματοληψία να πραγματοποιείται στην είσοδο των μονάδων επεξεργασίας λυμάτων και η ανίχνευση για τον εντοπισμό ιικών μεταλλάξεων να πραγματοποιείται τουλάχιστον 2 φορές τον μήνα.
- Υποχρέωση των κρατών μελών αποτελεί η άμεση ενημέρωση των δημόσιων αρχών αντιμετώπισης της πανδημίας για λόγους έγκαιρης ειδοποίησης.

Για να εξασφαλιστεί ότι οι μέθοδοι δειγματοληψίας και ανάλυσης είναι συγκρίσιμες και αξιόπιστες, τα κράτη μέλη θα πρέπει να εξασφαλίζουν ότι:

α) Τα δείγματα λαμβάνονται σε περίοδο 24 ωρών, με τη χρήση συστήματος λήψης σύνθετων δειγμάτων ως προς τον χρόνο ή τη ροή, και κατά τη διάρκεια περιόδων ξηρασίας, όπου είναι δυνατόν, ή διορθώνονται για την επίδραση μετεωρολογικών συμβάντων μέσω κανονικοποίησης με χρήση του όγκου ροής λυμάτων 24ώρου κατά

τον χρόνο της δειγματοληψίας και του μεγέθους του εξυπηρετούμενου πληθυσμού για τον υπολογισμό του κατά κεφαλήν ηοκού φορτίου ανά ημέρα.

β) Οι αναλύσεις πραγματοποιούνται σε εργαστήρια που εφαρμόζουν κατάλληλες μεθόδους RT-PCR ενώ διατηρείται η ποιότητα της μεθόδου.

γ) Η ανίχνευση παραλλαγών γίνεται με την χρήση τεκμηριωμένων μεθόδων γονιδιακής αλληλούχησης.

δ) Τα εργαστήρια που ενεργούν στην μέτρηση λυμάτων συμμετέχουν και σε κατάλληλες δοκιμές επάρκειας που οργανώνονται από διαπιστευμένους παρόχους και χρησιμοποιούν (πιστοποιημένα) υλικά αναφοράς.

ε) Απαραίτητη προϋπόθεση κρίνεται και η τήρηση ειδικών προτύπων ποιότητας.

Η συνεργασία Ευρωπαϊκής Επιτροπής, Ευρωπαϊκού Κέντρου Πρόληψης και Ελέγχου Νοσημάτων (ECDC), και άλλων Ευρωπαϊκών οργανισμών αποσκοπεί στην ανάπτυξη βέλτιστων πρακτικών για την διασφάλιση έγκυρων και εγκαίρων αποτελεσμάτων η ερμηνεία των οποίων θα εξασφάλιση την πανευρωπαϊκή και παγκόσμια δημόσια υγεία.

### **3.6 Σύσταση λυμάτων κατά την απαγόρευση κυκλοφορίας στην Αθήνα**

Η σύσταση των αστικών λυμάτων κατά τη διάρκεια απαγόρευσης κυκλοφορίας στην Αθήνα, οι μετρήσεις έδειξαν ένα ευρύ φάσμα χημικών ενώσεων, όπως αντιψυχωτικών φαρμάκων, παρανόμων ναρκωτικών, ενώσεων καπνού, πρόσθετων τροφίμων, φυτοφαρμάκων, βιοκτόνων, επιφανειοδραστικές ουσίες και βιομηχανικές χημικές ουσίες.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει στις έρευνες αυτές η σύγκριση με τα δεδομένα που είχαν συλλεχθεί πριν την εμφάνιση του SARS-CoV-2 και την θέσπιση μέτρων κοινωνικού περιορισμού για την προφύλαξη της δημόσιας υγείας.

Κατά την διάρκεια της απαγόρευσης κυκλοφορίας παρατηρήθηκε αύξηση στις συγκρίσιμες μετρήσεις των λυμάτων σε αντιψυχωτικά, αντικαταθλιπτικά, βενζοδιαζεπίνες (ψυχοδραστικές ουσίες). Εκτόξευση παρατηρήθηκε και στην χρήση παράνομων ουσιών (κοκαΐνη, αμφεταμίνη, μεθαμφεταμίνη, MDMA και κάνναβης). Μείωση παρατηρήθηκε στην κατανάλωση καπνού. Θα μπορούσε να μελετηθεί η συγκεκριμένη συμπεριφορά από ειδικούς στον χώρο της ψυχικής υγείας, διότι ενώ παρατηρήθηκε μείωση των καπνιστικών συνηθειών, σημειώθηκε αύξηση των παράνομων ουσιών. Οι καπνιστικές ιδιότητες πιστεύεται ότι περιορίστηκαν λόγω σύνδεσης των πολιτών με το γεγονός ότι ο SARS-CoV-2 προσβάλλει το αναπνευστικό σύστημα (Thomaidis et. all, 2021).

Πάρα την αυστηρότητα των μέτρων περιορισμού η αύξηση της χρήσης παράνομων ουσιών αποδεικνύει και την μη τήρηση των μέτρων καθώς η μετακίνηση των πολιτών δεν φαίνεται να περιορίστηκε. Επιπρόσθετα η αύξηση της χρήσης παράνομων ουσιών αποδεικνύει την εμφάνιση άγχους, έντονου φόβου και κατάθλιψη σε πολίτες που

ήρθαν αντιμέτωπη με διατάραξη της κανονικότητας που έως τώρα υπήρχε σαν δεδομένο. Η απόκλιση mg/ημέρα/1000 άτομα κοκαΐνης, αμφεταμίνης, μεθαμφεταμίνης και έκσταση μεταξύ των ετών 2019/2020 παρουσιάζεται στον πίνακα 2.

Πινάκας 2

Consumption (mean  $\pm$  standard deviation) of cocaine, amphetamine, methamphetamine, and MDMA expressed as mg/day/1000 people, using correction factors.

Compound	Consumption 2019	Consumption 2020	p-Value	Variation
Amphetamine	20.0 $\pm$ 10.4	86 $\pm$ 22	1.7E-05	Increase
Cocaine	134 $\pm$ 38	216 $\pm$ 39	2.1E-04	Increase
Methamphetamine	25.9 $\pm$ 8.4	37.9 $\pm$ 6.6	5.6E-03	Increase
MDMA (ecstasy)	8.8 $\pm$ 3.4	4.1 $\pm$ 2.6	7.4E-03	Decrease
THC (cannabis)	7389 $\pm$ 2075	5913 $\pm$ 1793	9.1E-02	Decrease

Πινάκας 2: Σύγκριση κοκαΐνης, αμφεταμίνης, μεθαμφεταμίνης και έκσταση 2019/2020 σε μέτρηση mg/ημέρα/1000 άτομα (Alygizakis et. all, 2021).

Αύξηση παρατηρήθηκε και στην χρήση τασιενεργών (επιφανειοδραστικών ουσιών και απορρυπαντικών με απολυμαντική δράση), που αποδεικνύει την λήψη μέτρων προφύλαξης των νοικοκυριών, με συχνό πλύσιμο χεριών, οικιακών και ρούχων για τον περιορισμό μετάδοσης του SARS-CoV-2.

Τα περισσότερα νοικοκυριά κατά την διάρκεια της πανδημίας, λόγω του κλεισίματος της εμπορικής αγοράς άλλαξαν τις καταναλωτικές τους συνήθειες και αύξησαν την αγορά σε πρόσθετα τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής. Οι μετρήσεις των φορτίων των ενώσεων πρόσθετων τροφίμων κατά την διάρκεια του lockdown διπλασιάστηκε αποδεικνύοντας την αλλαγή στις διατροφικές συνήθειες του πληθυσμού.

Τα μέτρα περιορισμού, η παραμονή στο σπίτι, η τηλεργασία και η μείωση της βιομηχανικής παραγωγής είχαν ως αποτέλεσμα την αξιοσημείωτη μείωση των βιομηχανικών χημικών ουσιών με πολλές θετικές αλλά και αρνητικές συνέπειες για το περιβάλλον.

Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ελαφρά μείωση σε βενζοϊκό οξύ (ένωσης του έχουν ευρεία χρήση στην βιομηχανία όπου χρησιμοποιείται ως κολλά, χημικό στεγανοποιητικό, λιπαντικό κ.α.) και υποδιπλασιασμός του N- μεθυλ-2-πυρρολιδόνη. Τα δυο παραπάνω αποτελούν ενώσεις με τα υψηλότερα φορτία μάζας στην βιομηχανία.

Ελαφρά αύξηση όμως παρατηρήθηκε στις διφαινόλλες και αλκυλλοφαινόλλες, χρήση των οποίων γίνεται σε βιομηχανικά και καταναλωτικά προϊόντα ως απολυμαντικά και αντιοξειδωτικά.

Στον πίνακα 3 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι διαφοροποιήσεις στο φορτίο των λυμάτων την περίοδο 2019-2020

Πίνακας 3

Mean mass loads ( $\text{g day}^{-1}$ ), standard deviations (SD) of the untreated wastewater samples for each year and % change during the study period (2019-2020).

Chemical class	Loads 2019 ( $\text{g day}^{-1}$ )	SD 2019	Loads 2020 ( $\text{g day}^{-1}$ )	SD 2020	Change 2019-2020 (%)	p-Value
Cationic surfactants (Biocides)	478	173	2061	476	+331	<2.0E-06
Surfactants	327,063	32,953	968,818	163,259	+196	<2.0E-06
Biocides (used also as pesticides)	62	4.7	156	8.5	+152	<2.0E-06
Food additives and Dietary Supplements	10,394	1852	22,128	1673	+113	<2.0E-06
Illicit drugs	1243	86	1632	73	+31	<2.0E-06
Benzodiazepines	257	21	309	16	+20	4.1E-06
Pesticides only	5174	329	5873	350	+14	2.0E-04
Antidepressants	2156	111	2227	92	+3	8.4E-02
Antipsychotics	481	28	481	11	0	5.1E-01
UV filters	1100	145	886	63.9	-24	2.8E-04
Tobacco	58,929	4582	44,401	3466	-33	<2.0E-06
Industrial chemicals	37,145	5757	24,371	1558	-52	<2.0E-06

Πίνακας 3: Μετρήσεις χημικών ουσιών και % αλλαγής των ετών 2019/2020 (Alygizakis et. all, 2021).

Χρήσιμες πληροφορίες λαμβάνονται σε δεύτερη έρευνα σε μετρήσεις φαρμάκων στα λυμάτων της Αθήνας κατά την διάρκεια της πανδημίας.

Συγκεκριμένη έρευνα αποκαλύπτει την αύξηση λήψης φαρμάκων αντιικών κατά 170%, υδροξυχλωροκίνη κατά 387% και αντιβιοτικών κατά 57%, φάρμακα που αποτέλεσαν θεραπεία για την αντιμετώπιση του SARS-CoV-2. Παράλληλα παρατηρήθηκε και αύξηση της χρήσης παρακεταμόλης κατά 198%. Σε αντίθεση με τα φάρμακα προς καταναλωση των χρόνιων ασθενειών όπου παρέμειναν στα ίδια επίπεδα με την αντίστοιχη περσινή χρονιά όπου δεν είχε κάνει ακόμη την εμφάνιση της η πανδημία (Thomaidis et. all, 2021). Στον πίνακα 4 που ακολουθεί αναλύονται οι αλλαγές στις συνήθειες κατανάλωσης φαρμάκων την περίοδο Μάρτιος / Απρίλιος 2019-2020.

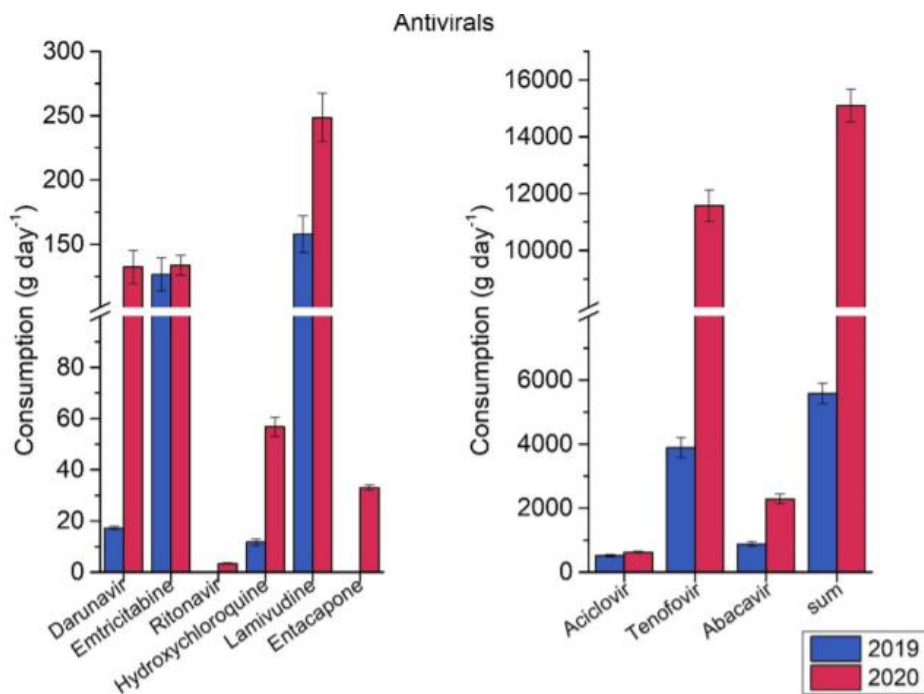
## Πινάκας 4

Selected drugs of interest during the COVID-19 outbreak and relative changes in their consumption. Consumption ( $\text{g day}^{-1}$ ) and standard deviation of specific drugs and of 7 drug classes and their % change during the same calendar period (March / April 2019–2020) are shown.

Compound name/classes (number of compounds)	Consumption (g/day) 2019	Standard deviation 2019	Consumption (g/day) 2020	Standard deviation 2020	Change (%) 2019–2020
Hydroxychloroquine	12	1	57	4	+387%
Antivirals-excluding hydroxychloroquine	5576	453	15,010	786	+170%
Azithromycin	2222	168	3028	322	+36.3%
Other antibiotics – excluding azithromycin	11,987	416	19,325	641	+61%
Paracetamol	76,044	4796	226,449	21,859	+198%
11 NSAIDs	99,250	4811	72,524	3770	-26.9%
Antihypertensives ARBs/ACEis	106,706	2872	75,374	3510	-29.4%
B-Blockers	5783	311	5106	331	-11.7%
Antiarrhythmics	217	22	156	12	-28.1%

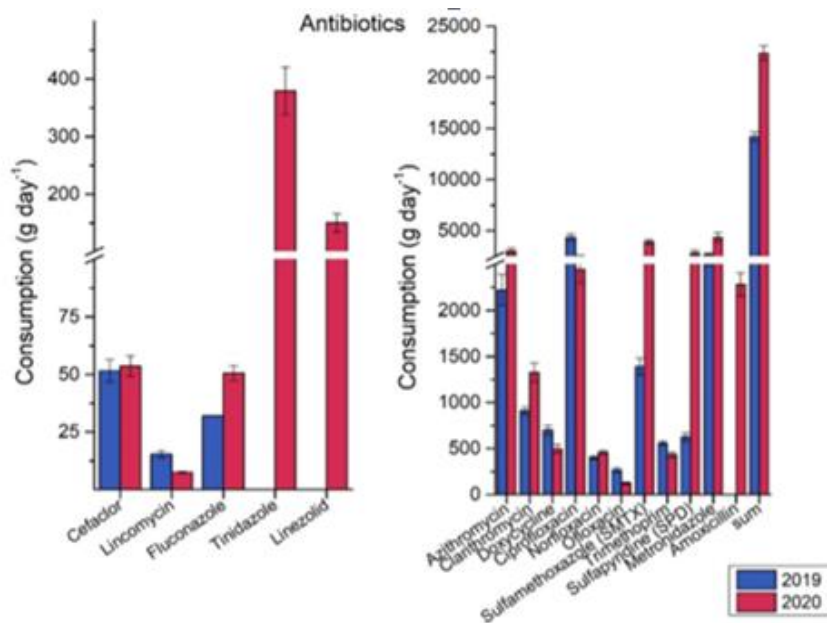
Πινάκας 4: Σύγκριση αλλαγών κατανάλωσης 7 φαρμάκων περιόδου Μάρτιου/ Απριλίου 2019-2020 (Thomaidis et. all, 2021).

Στα διαγράμματα 3 και 4 που ακολουθούν παρουσιάζονται οι μεταβολές κατανάλωσης Αντιικών φαρμάκων και Αντιβιοτικών φαρμάκων αντίστοιχα κατά τα έτη 2019 με 2020 περίοδος lockdown στην Αθηνά.



Διάγραμμα 3: Σύγκριση κατανάλωσης Αντιικών φαρμάκων 2019 με το 2020 περίοδος lockdown στην Αθηνά (Galani et. all, 2021).





Διάγραμμα 4: Σύγκριση κατανάλωσης Αντιβιοτικών φαρμάκων 2019 με 2020 περίοδος lockdown στην Αθηνά (Galani et. all, 2021)

### 3.7 Δειγματοληψία

Για την εγκυρότητα της επιτήρησης των λυμάτων και της παρακολούθησης του Covid-19 άλλα και άλλων δυνητικά μολυσματικών ασθενειών υπάρχει οδηγία δειγματοληψίας υγρών αποβλήτων, του Κέντρου Έλεγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ) του Υπουργείου Υγείας.

Σκοπός των οδηγιών είναι η περιγραφή του τρόπου λήψης, μεταφοράς, συντήρησης και επεξεργασίας των υγρών αποβλήτων.

Επιπρόσθετα οδηγίες για την δειγματοληψία και την συλλογή και χρήση πληροφοριών από τα δεδομένα επιτήρησης των λυμάτων έχουν δοθεί και από την Ευρωπαϊκή κοινότητα τον Νοέμβριο του 2020 σε συνεργασία με περιφερειακό γραφείο ΠΟΥ για την Ευρώπη δημοσίευσε "Διαβούλευση εμπειρογνομόνων για ανάγκες δημόσιας υγείας που σχετίζονται με επιτήρηση του SARS-CoV-2 στα λύματα."

Τα μέλη οπού συμμετέχουν υποχρεούνται να ακολουθούν τις οδηγίες σωστής δειγματοληψίας, ώστε τα δεδομένα που συλλέγονται να είναι αξιόπιστα και συγκρίσιμα.

Όπως αναφέρεται και παραπάνω στην αναφορά της σύστασης της ΕΕ 2021/472, οι τοποθεσίες δειγματοληψίας πρέπει να επιλέγονται προσεκτικά, κρίσιμο κριτήριο επιλογής αποτελούν οι περιορισμένοι πόροι, γι'αυτόν τον λόγο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί και να ελεγχθεί κάθε μονάδα επεξεργασίας λυμάτων ή/και κάθε υπολεκάνη αποχετευτικού δικτύου. Ο αριθμός των κατοίκων αποτελεί βασικό κριτήριο επιλογής της λεκάνης ή υπολεκάνης απορροής ώστε να έχουμε και μεγάλο όγκο



δεδομένων, άλλα αποτελούν και περιοχές μελέτης επειδή επηρεάστηκαν περισσότερο στα προηγούμενα κύματα του SARS-CoV-2.

Η συχνότητα δειγματοληψίας αποφασίστηκε να είναι ιδανικά καθημερινή ώστε να αποδίδει στοιχεία για την επιτήρηση της δημοσίας υγείας και την έγκαιρη προειδοποίηση των αρχών, άλλα αποδεκτά καθίστανται και τα στοιχειά δειγματοληψίας λυμάτων που διενεργείται μία ή δύο φορές την εβδομάδα διότι η εβδομαδιαία συχνότητα μπορεί να παρέχει επαρκή δεδομένα για την εικόνα επί που θα ακολουθήσει.

Το πιο αντιπροσωπευτικό αποτελέσματα το παρέχει το σύνθετο δείγμα (π.χ. δειγματοληψία αναλογικής ροής 24 ωρών στην είσοδο των λυμάτων μονάδες επεξεργασίας) προτιμάται έναντι ενός δείγματος μονής αρπαγής διότι η δειγματοληψία αρπαγής θεωρείται ότι μπορεί εύκολα να χάσει θετικά αποτελέσματα εμφάνισης RNA ιού (Thomaidis et. all, 2021, D'Aoust et. all, 2021).

Διάφοροι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την πληροφοριακή αξία ενός δείγματος λυμάτων, συμπεριλαμβανομένης της αραιώσης με βροχή σε συνδυασμένους υπονόμους, αραιώση με απορρίψεις λυμάτων από εμπορικά ή βιομηχανικά επιχειρήσεις, εισροή ξένων υδάτων, μήκος του αποχετευτικού δικτύου και αριθμός των συνδέσεις ανάντη του σημείου δειγματοληψίας και παρουσία ή απουσία αντλιοστασίων.

Οι παραπάνω παράγοντες αραιώνουν το ιικό φορτίο των λυμάτων και αποτελούν πρόκληση για τους υπεύθυνους αξιολόγησης των μετρήσεων των λυμάτων, ενώ ευθύνονται για την δημιουργία μοντέλων μετατροπών των ποσοστών των μετρήσεων.

Ο SARS-CoV-2όπως και άλλοι ιοί με περίβλημα συμπεριφέρονται διαφορετικά στο υδάτινο περιβάλλον. Η παρουσία του SARS-CoV-2 στα κόπρανα είναι αποδεδειγμένη άλλα θεωρείται απίθανο η μετάδοση του να γίνει δια μέσω των λυμάτων. Η παρουσία του επηρεάζεται επιπλέον από :

1. Την θερμοκρασία (ο τίτλος του ιού μειώνεται γρηγορότερα σε θερμοκρασία 23-25 °C παρά στους 4°C). Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία του νερού, αυξάνεται και ο συντελεστής αδρανοποίησης του ιού μειώνοντας τον χρόνο ζωής του στα λύματα.
2. Τα οξειδωτικά (υπολειμματικό χλώριο) που χρησιμοποιείται στα ΜΕΛ αποσταθεροποιεί τον ιό.
3. Το PH μπορεί να επηρεάσει την παρουσία του ιού στα λύματα. Οι περισσότεροι ιοί παραμένουν σταθεροί σε pH 6 ενώ αποσταθεροποιούνται σε όξινο PH.
4. Τα COD και TTS τα οποία επηρεάζουν την σύνθεση των λυμάτων και την απόδοση του ιικού RNA.
5. Τις έντονες βροχοπτώσεις και τις εισροές υπόγειων υδάτων που επηρεάζουν τα λύματα με αραιώση.  
( D.Poloa, et all, 2020, Thomaidis et. all, 2021, D'Aoust et. all, 2021).

Αντί να δοκιμάζονται άτομα, η επιτήρηση του RNA του SARS-CoV-2 στα λύματα προσφέρει πλεονέκτημα της συγκέντρωσης πληροφοριών για αρκετές εκατοντάδες ή

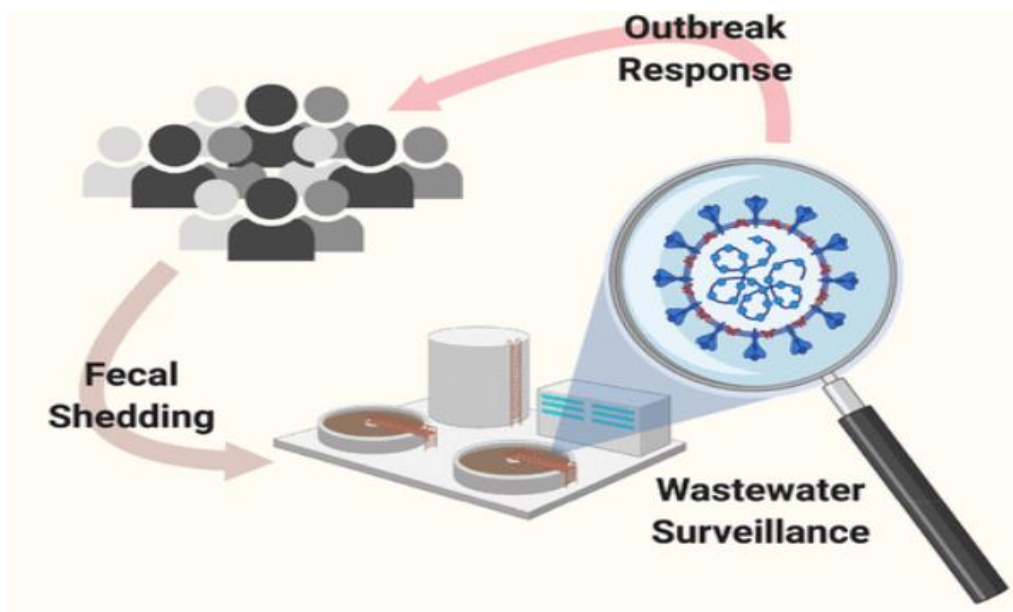
χιλιάδες άτομα σε ένα δείγμα αντί αυτά τα άτομα να μπαίνουν στην διαδικασία του ελέγχου με την διεξαγωγή test. Ο γεωεντοπισμός (θετικών) δειγμάτων μπορεί να οδηγήσει σε κίνδυνο στιγματισμού ορισμένων πληθυσμιακών ομάδων, επομένως σημαντικό αποτελεί η μη δημοσιοποίηση τέτοιων πληροφοριών ώστε να εξασφαλίζεται η προστασία των ατομικών δικαιωμάτων.

Οι έρευνες που έχουν γίνει μέχρι τώρα στην Αθήνα ακολουθούν τις παραπάνω οδηγίες ακολουθώντας επίσης το Πρωτόκολλο Βέλτιστης Πρακτικής του Score (Thomaidis et. al, 2021).

### 3.8 Συλλογή δείγματος

Η συλλογή των δειγμάτων υγρών λυμάτων γίνεται στην Μονάδα Επεξεργασίας Λυμάτων (ΜΕΛ) της Αττικής, την Ψυτάλλεια σε συνεργασία με την Εταιρεία Ύδρευσης και Αποχέτευσης Αθηνών (ΕΥΔΑΠ) , όπου απορρέουν λύματα από την Αθήνα και τα προάστια αυτής. Τα λύματα που απορρέουν στην Ψυτάλλεια αντιπροσωπεύουν κατά μέσο όρο περίπου 4,0 εκατομμύρια πληθυσμό της Αττικής καθιστώντας την, με μέση εισερχόμενων λυμάτων, περίπου 730.000 κ.μ. ημερησίως καθιστώντας την μεγαλύτερη λεκάνη απορροής λυμάτων στην Ελλάδα.

Η διαδικασία επιτήρησης των λυμάτων και η ανταπόκριση των μετρήσεων στις τάσεις εμφάνισης στην κοινότητα απεικονίζεται στην ακολουθούμενη εικόνα 12.



Εικόνα 12 : Επιτήρηση λυμάτων (Bivins et. al. 2020).

Αξίζει να σημειωθεί ότι η λήψη δειγμάτων προς μέτρηση δεν διενεργείται στις περιπτώσεις ειδικών εκδηλώσεων, όπως επίσημες αργίες ή φεστιβάλ, άλλα και σε περιπτώσεις έντονων βροχοπτώσεων.

Στην συγκεκριμένη Μονάδα Επεξεργασίας Λυμάτων γίνεται επεξεργασία της ιλύος με πρωτογενή καθίζηση, βιολογική αφαίρεση φωσφόρου και αζώτου και τέλος μια δευτερογενή καθίζηση της ιλύος (Thomaidis et. all, 2021).

Η συλλογή των λυμάτων άφορα σύνθετα λύματα 24ωρου , το οποίο θεωρείται αντιπροσωπευτικό στην ανίχνευση του ιού σε αντίθεση με την λήψη μεμονωμένων δειγμάτων. Παρότι τα σύνθετα δείγματα είναι περισσότερο ευαίσθητα στην χρήση καθότι ο χρόνος ημιζωής του κυμαίνεται από 4,8-7,2 ώρες σε συνθήκες περιβάλλοντος καλύτερη μέθοδο από την μέθοδο αρπαγής διότι αποτελεί αντιπροσωπευτικότερο δείγμα (Thomaidis et. all, 2021).

### **3.9 Αποθήκευση του δείγματος**

Τα λύματα συλλέγονται σε ειδικό περιέκτη, συνήθως προκαθαρισμένες φιάλες (καθαρισμός με μεθανόλη και νερό Milli-Q) πολυαιθυλενίου υψηλής πυκνότητας (HDPE) 2 L. Η θερμοκρασία μεταφοράς στα εργαστήρια ποικίλει σε αναφορές. Ιδανική θερμοκρασία για τον περιορισμό βακτηριακής ανάπτυξης αποτελεί η θερμοκρασία των -20 °C. Η ψύξη και απόψυξη των δειγμάτων μπορεί να προκαλέσουν μείωση του ιικού RNA του ιού. Η θερμοκρασία των -80°C ή -20°C προτείνεται για την μεταφορά συμπυκνωμένων λυμάτων. Όπως και η μεταφορά στους 4 °C θεωρείται μια καλή θερμοκρασία και έχει χρησιμοποιηθεί ως θερμοκρασία συντήρησης των λυμάτων (Hamouda et. all,2021, Thomaidis et. all, 2021).

### **3.10 Επεξεργασία**

Ακολουθεί φυγοκέντριση στις 4700 στροφές για 30 λεπτά ώστε να απομακρυνθούν και να απομονωθούν από το υπερκείμενο του δείγματος, υπολείμματα, βακτήρια, και μεγάλα σωματίδια. Ακολουθώντας η απομόνωση του ιικού RNA από μύκητες, βακτήρια, άγλη με την χρήση ειδικών κιτ ώστε να έχουμε την επίτευξη της απομόνωσης του ιικού RNA. Η απομόνωση τους συμβαίνει για την κανικοποίηση του δείγματος ώστε να βρεθεί ο αριθμός αντιγράφων, των γονιδίων στόχων που υπάρχει στο συγκεκριμένο δείγμα. Εφαρμόζεται μια απλή μαθηματική εξίσωση όπου γίνεται η μέτρηση τιμών του κύκλου ποσοτικοποίησης (Cq) των δειγμάτων οι οποίοι συγκρίνονται με αντίστοιχα πρότυπα γνωστής ποσότητας και απεικονίζονται σε μια καμπύλη. Τα δείγματα κανονικοποιούνται σε σχέση με τον ρυθμό ροής και το σύνολο των μετρήσιμων ατόμων που περιλαμβάνονται στην λεκάνη απορροής. σε περιπτώσεις διαφορών στους κύκλους ποσοτικοποίησης υπολογίζεται η αραίωση (Hamouda et. all,2021, Thomaidis et. all, 2021).

### 3.11 Ανίχνευση RNA

Τελικό στάδιο είναι η ανάλυση και ανίχνευση του ιικού φορτίου με χρήση RT-qPCR. Για την συγκεκριμένη μέθοδο κυκλοφορούν πλέον στο εμπόριο πολλαπλά κίτ τα όποια παρέχουν αναλυτικές οδηγίες για την χρήση τους. Η ομάδα αναλυτικής χημείας χρησιμοποιεί εκκίνητες και αντιδραστήρια control ώστε να είναι συγκρίσιμο και αξιόπιστο το αποτέλεσμα της μεθόδου. Η διαδικασία ποιοτικού έλεγχου περιλαμβάνει την χρήση τυφλού δείγματος ώστε να εξασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει παράλληλη μόλυνση, χρησιμοποιείται επίσης θετικό δείγμα ως μαρτυράς( συνθετικό DNA), για αξιολόγηση της θεοποίησης, ακολουθώντας οι μετρήσεις αυτών με PCR (Hamouda et. all,2021, Thomaidis et. all, 2021).

Στο δείγμα που λαμβάνεται εξετάζονται (φώσφορος, άζωτο, BOD, COD και NH<sub>4</sub>-N), οι συγκεντρώσεις των οποίων αποδεικνύουν το σύνολο του πληθυσμού της συγκεκριμένης λεκάνης απορροής. Μετριέται επίσης και ο καθημερινός ρυθμός ροής στην μονάδα επεξεργασίας της εξεταζόμενης λεκάνης. Τα στοιχεία αυτά χρησιμοποιούνται σε εξισώσεις προσδιορισμού των αντιγράφων που θα ληφθούν (Hamouda et. all,2021, Thomaidis et. all, 2021).

Η ανίχνευση γονιδίων του SARS-CoV-2 με RT-PCR άφορα συνήθως το γονίδιο E, το γονίδιο N αλλά και ORF1ab (Mancini et. All, 2021, Peccia et. all, 2020, Medema, et. all, 2020, Alygakis et. all, 2021).

Η ενίσχυση πραγματοποιείται με ένα μίγμα αντίδρασης 25 μL που περιέχει 5 μL εκχυλισμένο RNA.

Ακολουθεί το βήμα αντίστροφης μεταγραφής στους 50°C για 15 λεπτά, η ενεργοποίηση στους 95°C για 1 λεπτό ακολουθούμενο από 45 κύκλους.

Κάθε εκχύλισμα RNA αναλύεται τρεις φορές και τα δείγματα με τιμή ποσοτικού προσδιορισμού κύκλου (Cq) μικρότερη από 37 κύκλους θεωρούνται θετικά.

Επιπλέον πέραν της RT-qPCR έχουν διεθνώς χρησιμοποιηθεί επίσης οι μέθοδοι Nested PCR and droplet digital PCR (ddPCR), η ισοθερμική ενίσχυση με τη μεσολάβηση βρόχου (LAMP), αλλά και άλλες μέθοδοι (Alygakis et. all, 2021).

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

## Αποτελέσματα

### 4.1. Σκοπός μελέτης

Η παρουσία του SARS-CoV-2 ή Covid 19 στα κόπρανα ασυμπτωματικών, άλλα και όσων νοσούν και η απόρριψη αυτών στο περιβάλλον μέσω των λυμάτων, αποτελεί εργαλείο για τον έλεγχο και τον περιορισμό της πανδημίας.

Συμφώνα με έρευνες ασυμπτωματικοί ασθενείς ευθύνονται για το 40-50% των λοιμώξεων ενώ μπορούν να μεταδώσουν τον ιό για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ο χρόνος επώασης του COVID-19 συμφωνά με τον ΠΟΥ 2-14 ημέρες με μελέτες να υποδεικνύουν ~ τις 7 ημέρες ως τον χρόνο εκδήλωσης της νόσου.

Η μόλυνση από SARS-CoV-2 επηρεάζει έκτος του αναπνευστικού συστήματος και το γαστρεντερικό σύστημα ένα σύστημα που διακατέχεται από το ACE2 το οποίο αποτελεί θέση προσάρτησης του ιού. Αποδεδειγμένα τα άτομα που μολύνονται από τον ιό αποβάλλουν ιικό RNA του SARS-CoV-2 στα κόπρανα και τα ούρα όπως και σε άλλα βιολογικά υγρά.

Όλα αυτά τα στοιχεία μετά την αποβολή από τον ανθρώπινο οργανισμό μεταφέρονται μέσω του δικτύου αποχέτευσης στις Μ.Ε.Λ.

Οι μετρήσεις αποβολής ιών ως εργαλείο επιτήρησης έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν. Η επιτήρηση των λυμάτων παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τον επιπολασμό του SARS-CoV-2 στην κοινότητα προσδίδοντας πληροφορίες για όλες τις κοινότητες ομάδες συμπτωματικών και ασυμπτωματικών ατόμων ενώ χρησιμεύει στην χρήση κατάλληλων στρατηγικών για την προστασία της δημοσίας υγείας και τον έλεγχο εξάπλωσης της πανδημίας.

Οι πληροφορίες που λαμβάνονται από τις μετρήσεις των λυμάτων αποτελούν προϊόν πρόληψης της μετάδοσης, ημέρες πριν την εμφάνιση της αύξησης των κρουσμάτων.

Ενώ μπορούν επιπλέον να προειδοποιήσουν περάν από την αύξηση των κρουσμάτων και στην έγκαιρη ενημέρωση των αρχών για τις εισαγωγές στα νοσοκομεία καθώς με την αύξηση των κρουσμάτων αυξάνεται πάντα και η ανάγκη νοσηλείας των πασχόντων.

Μια πολύπλοκη εργαστηριακή διαδικασία μπορεί να λειτουργήσει ως ασπίδα στην δημοσία υγεία.

## **4.2 Μεθοδολογία και εργαλεία έρευνας**

Για τους σκοπούς και στόχους της έρευνας πραγματοποιείται ποσοτική μελέτη.

Συγκεντρώθηκε το μέσο εβδομαδιαίο ιικό φορτίο SARS-CoV-2 στα λύματα και στη συνέχεια έγινε καταγραφή των ημερήσιων κρουσμάτων από τις ημερήσιες εκθέσεις του ΕΟΔΥ. Ακολούθως, υπολογίστηκε η ποσοστιαία μεταβολή των συνολικών κρουσμάτων ανά εβδομάδα σε αντιστοιχία με την ποσοστιαία μεταβολή του ιικού φορτίου στα λύματα. Η έρευνα αφορά συνολικά σε 39 βδομάδες για το χρονικό διάστημα Μάρτιος-Νοέμβριος 2021.

Τα στοιχεία αυτά δίνονται δημόσια καθημερινά στον επίσημο ιστότοπο του ΕΟΔΥ στις ημερήσιες εκθέσεις για τον νέο κορωνοϊό. Κάθε ημέρα Τρίτη μέσα στις ημερήσιες εκθέσεις συμπεριλαμβάνεται και ο πίνακας τις ποσοστιαίας μεταβολής του εβδομαδιαίου φορτίου των λυμάτων. Σε αναζήτηση τις ποσοστιαίας μεταβολής του ιικού φορτίου πληροφορηθήκαμε ότι αποτελεί ερευνά εν εξέλιξη και δεν είναι δυνατή η μεταφορά δεδομένων σε μη ερευνητές της συγκεκριμένης μελέτης.

Η συλλογή των δειγμάτων υγρών λυμάτων γίνεται στην Μ.Ε. Α Αττικής, Ψυτάλλεια σε συνεργασία με την ΕΥΔΑΠ, όπου απορρέουν λύματα ~ 4,0 εκ. κατοίκων της Αθήνας και των προαστίων της. Η απόδοση του ιικού φορτίου των λυμάτων αφορά την εμφάνιση του ιικού RNA ανά 100,000 κατοίκους.

## **4.3 Ερευνητικά Ερωτήματα**

### **4.3.1 Ηθική και Δεοντολογία**

Η παρούσα μελέτη χρησιμοποιεί στοιχεία δημόσια για την εκτέλεση της στατιστικής ανάλυσης και εύκολα προς όλους προσβάσιμα στην επίσημη ιστοσελίδα του ΕΟΔΥ. Δεν αποτελεί έρευνα με χρήση ερωτηματολόγιου γι' αυτόν τον λόγο δεν ζητήθηκε αδειοδότηση για την χρήση των στοιχείων και την συγγραφή της.

### **4.3.2 Στατιστική επεξεργασία**

Τα δεδομένα συλλέχθηκαν, κωδικοποιήθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε μια βάση δεδομένων του SPSS Statistics 27. Μέσω αυτού πραγματοποιήθηκαν όλες οι στατιστικές αναλύσεις.

Πραγματοποιήθηκε περιγραφική στατιστική για τις μεταβλητές που εξετάζουμε και κατασκευάστηκαν γραφήματα και πίνακες, όπου κρίθηκε απαραίτητο για τη βέλτιστη κατανόηση των δεδομένων.

Στη συνέχεια έγινε έλεγχος συσχετίσεων κατά Pearson και ANOVA για να απορριφθούν ή να επιβεβαιωθούν οι υποθέσεις της παρούσας έρευνας.

Οι ερευνητικές υποθέσεις πάνω στις οποίες στηρίχθηκε η έρευνα είναι οι ακόλουθες:

**H0:** Το μέσο εβδομαδιαίο ιικό φορτίο SARS-CoV-2 στα λύματα δεν είναι παρουσιάζει γραμμική σχέση με τη ποσοστιαία μεταβολή στα καταγεγραμμένα εβδομαδιαία κρούσματα.

**H1:** Το μέσο εβδομαδιαίο ιικό φορτίο SARS-CoV-2 στα λύματα παρουσιάζει γραμμική σχέση με τη ποσοστιαία μεταβολή στα καταγεγραμμένα εβδομαδιαία κρούσματα.

**H2:** Το μέσο εβδομαδιαίο ιικό φορτίο SARS-CoV-2 στα λύματα δεν συσχετίζεται με τη ποσοστιαία μεταβολή στα καταγεγραμμένα εβδομαδιαία κρούσματα.

**H3:** Το μέσο εβδομαδιαίο ιικό φορτίο SARS-CoV-2 στα λύματα συσχετίζεται με τη ποσοστιαία μεταβολή στα καταγεγραμμένα εβδομαδιαία κρούσματα.

#### 4.4 Περιγραφική Στατιστική

Συλλέχτηκαν στοιχεία για τις μεταβλητές που εξετάζουμε από τους πίνακες των ημερήσιων εκθέσεων του ΕΟΔΥ. Τα δεδομένα αυτά των μεταβλητών καταχωρήθηκαν σε φύλλα excel. Η καταχώρηση αφορούσε τις εβδομάδες που παρατηρήθηκε η ποσοστιαία μεταβολή του ιικού φορτίου. Στο σύνολο, τα δεδομένα αφορούν σε 39 εβδομάδες (0-38 εβδομάδες) για το χρονικό διάστημα από τον Μάρτιο έως τον Νοέμβριο του 2021 (22 Φεβρουαρίου έως 21 Νοεμβρίου). Επιλέχθηκαν τα δεδομένα που πληρούν τις προϋποθέσεις για την ομαλή εξέλιξη της ανάλυσης. Συγκεκριμένα αφαιρέθηκαν οι εβδομάδες που ήταν ελλιπής σε μετρήσεις λυμάτων (εβδομάδα 9 και 16). Οι μεταβλητές όπως αναφέρθηκε δεν είναι ποσοτικές μετρήσεις αλλά αφορούν στην ποσοστιαία εβδομαδιαία διαφορά του ιικού φορτίου στα λύματα (μέσος όρος) και των καταγεγραμμένων κρουσμάτων (σύνολο) στην περιοχή της Αττικής (εκτός της Ανατολικής Αττικής), ούτως ώστε να είναι συγκρίσιμες σε ίδια διαστήματα. Τα καταγεγραμμένα κρούσματα της Ανατολικής Αττικής δεν συμπεριλήφθησαν διότι τα λύματα των συγκεκριμένων περιοχών δεν συνδέονται με το κεντρικό αποχετευτικό δίκτυο και απορριφτήκαν.

Σύμφωνα με τα δεδομένα η διαχρονική ποσοστιαία μεταβολή του μέσου εβδομαδιαίου ιικού φορτίου του Sars CoV 2 στα λύματα (ανεξάρτητη μεταβλητή) παρουσιάζεται στον πίνακα 5 και γράφημα 5 που ακολουθούν.

Πινάκας 5

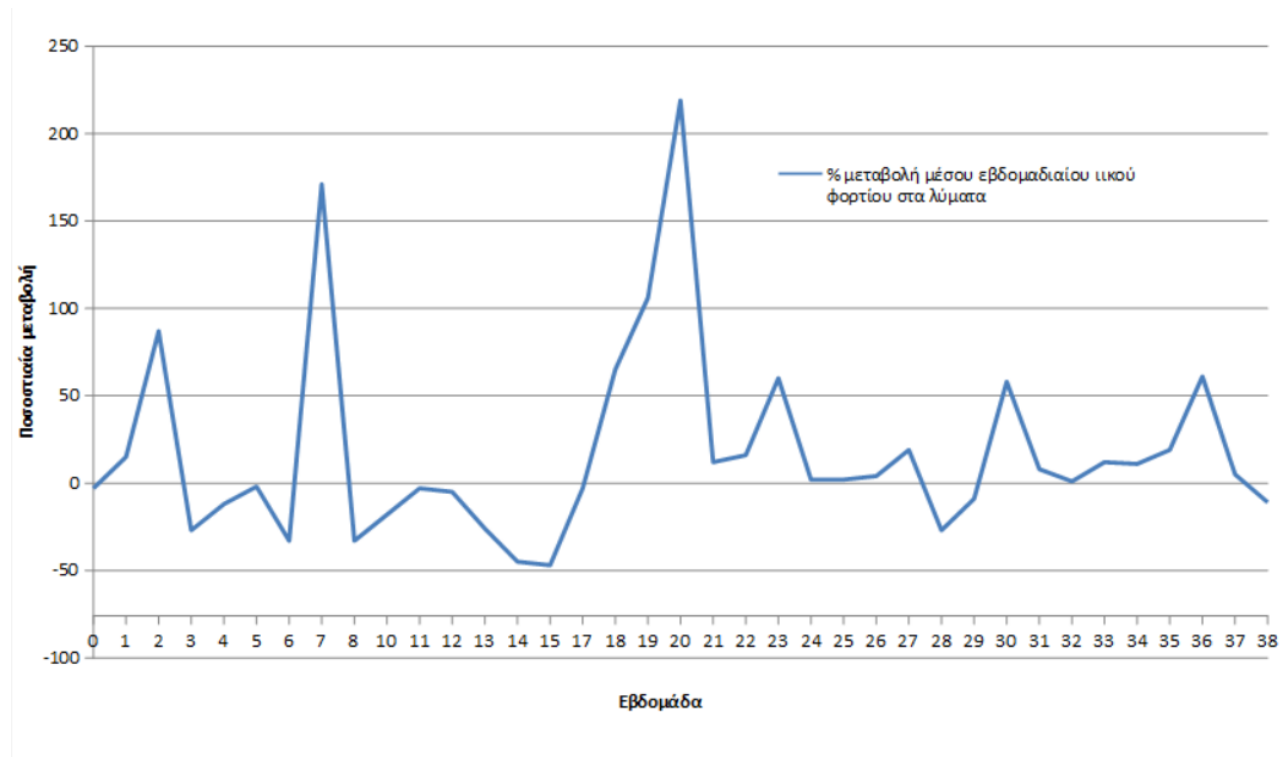
Εβδομάδα	% μεταβολή μέσου εβδομαδιαίου ήλικου φορτίου στα λύματα
0	-3
1	15
2	87
3	-27
4	-12
5	-2
6	-33
7	171
8	-33
10	-18
11	-3
12	-5
13	-26
14	-45
15	-47
17	-3
18	65
19	106
20	219
21	12
22	16
23	60
24	2
25	2
26	4
27	19
28	-27
29	-9
30	58
31	8
32	1
33	12
34	11
35	19
36	61
37	5
38	-11

Πινάκας 5. Διαχρονική ποσοστιαία μεταβολή Μ.Ε.Ι.Φ. SARS-CoV-2 για το διάστημα Μάρτιος-Νοέμβριος 2021.



Ακολουθεί το διάγραμμα 5 με την ποσοστιαία μεταβολή του ιϊκού φορτίου SARS-CoV-2 38 εβδομάδων, για το διάστημα Μάρτιος-Νοέμβριος 2021.

Διάγραμμα 5



Διάγραμμα 5. Διαχρονική ποσοστιαία μεταβολή ιϊκού φορτίου SARS-CoV-2 (κάθετος άξονας) σε εβδομάδες (οριζόντιος άξονας) για το διάστημα Μάρτιος-Νοέμβριος 2021.

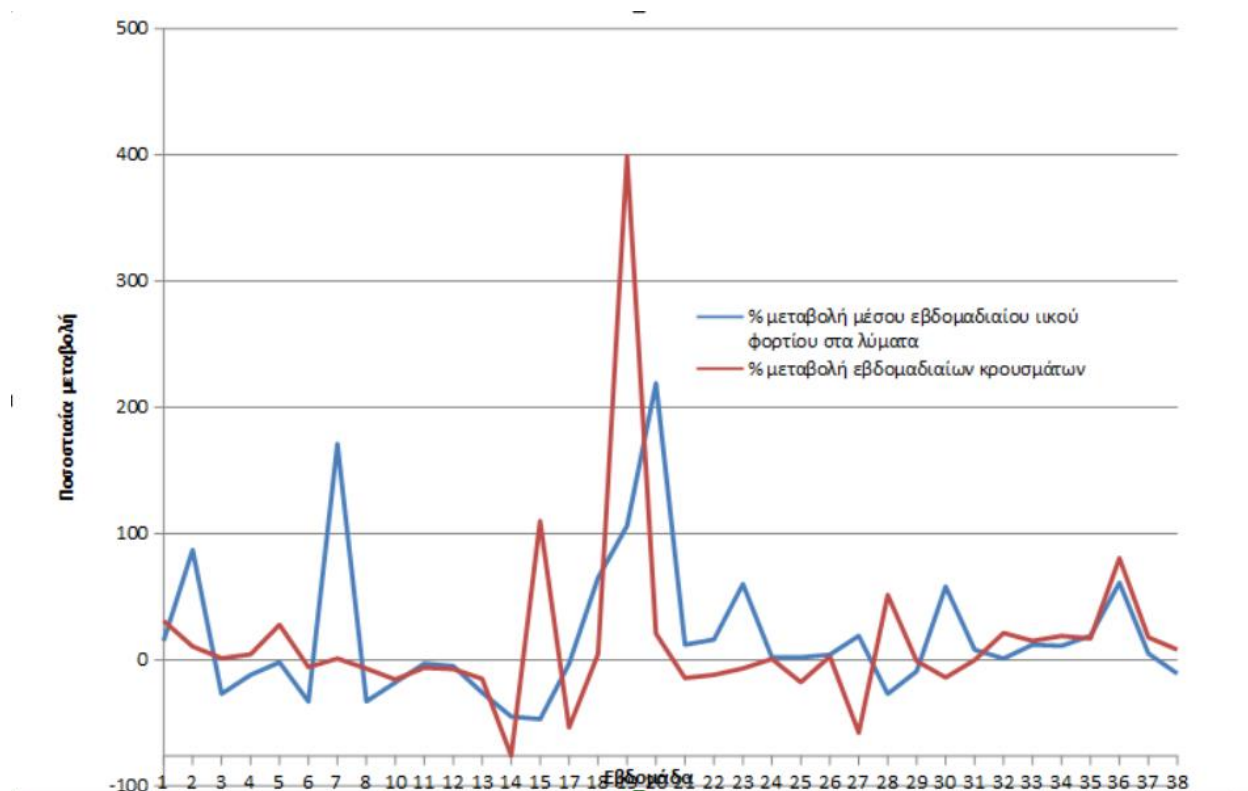
Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παράλληλη σύγκριση των λυμάτων με την εξέλιξη των κρουσμάτων για το ίδιο χρονικό διάστημα. Ακολουθεί ο Πίνακας 6 παράλληλης σύγκρισης ποσοστιαίας μεταβολής συγκέντρωσης ιϊκού φορτίου στα λύματα (ανεξάρτητη μεταβλητή) με τη ποσοστιαία μεταβολή των κρουσμάτων (εξαρτημένη μεταβλητή) για τις αντίστοιχες εβδομάδες. Αφαιρείται η εβδομάδα μηδέν (0), καθώς πρόκειται για βοηθητική εβδομάδα υπολογισμού της διαφοράς και δεν προσφέρει δεδομένα.

Πίνακας 6

Εβδομάδα	% μεταβολή μέσου εβδομαδιαίου φορτίου στα λύματα	%μεταβολή εβδομαδιαίων κρουσμάτων
1	15	31
2	87	11
3	-27	1
4	-12	4
5	-2	28
6	-33	-6
7	171	1
8	-33	-7
10	-18	-16
11	-3	-6
12	-5	-7
13	-26	-15
14	-45	-76
15	-47	110
17	-3	-54
18	65	5
19	106	399
20	219	21
21	12	-14
22	16	-12
23	60	-7
24	2	1
25	2	-18
26	4	3
27	19	-58
28	-27	51
29	-9	-1
30	58	-14
31	8	0
32	1	21
33	12	15
34	11	19
35	19	17
36	61	80
37	5	18
38	-11	8

Πίνακας 6. Σύγκριση ποσοστιαίας μεταβολής μέσου εβδομαδιαίου φορτίου και κρουσμάτων SARS-CoV-2 για το διάστημα Μάρτιος- Νοέμβριος 2021.

Στο διάγραμμα 6 που ακολουθεί παρουσιάζεται διαγραμματικά η μεταβολή αυτών των δύο ταυτόχρονα.



Διάγραμμα 6. Σύγκριση ποσοστιαίας εβδομαδιαίας μεταβολής ιικού φορτίου και κρουσμάτων SARS-CoV-2.

Από τα παραπάνω είναι φανερή η παρόμοια πορεία των τάσεων των μεταβλητών να αυξάνονται και να μειώνονται αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα, για τις πρώτες 8 εβδομάδες η πορεία των δυο μεταβλητών δεν είναι τόσο κοινή, έχει όμως την τάση να αυξομειώνεται σχεδόν παράλληλα σε διαφορετικό βαθμό. Τις εβδομάδες 10-38 οι τάσεις αυξομείωσης είναι σχεδόν ισοδύναμες με πολύ μικρές χρονικές διαφορές, γεγονός που προδίδει συσχέτιση των μεταβλητών που εξετάζονται. Ως εκ τούτου, ακολουθεί επαγωγική στατιστική για επιβεβαίωση συσχέτισης.

#### 4.5 Επαγωγική στατιστική

Με βάση την περιγραφική ανάλυση των δεδομένων κρίθηκε αναγκαίο να εξεταστεί η συσχέτιση των μεταβλητών. Μετά τη παρατήρηση του Διαγράμματος 6, είναι απαραίτητο να εξεταστεί πρώτα τυχόν γραμμική σχέση μεταξύ των μεταβλητών και για αυτό ακολούθησε συσχέτιση κατά Pearson (Pearson product-moment correlation) η οποία αποδίδεται στον πίνακα 7 που ακολουθεί.

Πίνακας 7

<b>Correlations</b>		Ποσοστιαία μεταβολή μέσου εβδομαδιαίου υϊκού φορτίου	Ποσοστιαία μεταβολή καταγεγραμμένων κρουσμάτων ν
Ποσοστιαία μεταβολή μέσου εβδομαδιαίου υϊκού φορτίου	Pearson Correlation	1	,277
	Sig. (2-tailed)		,101
	N	36	36
Ποσοστιαία μεταβολή καταγεγραμμένων κρουσμάτων	Pearson Correlation	,277	1
	Sig. (2-tailed)	,101	
	N	36	36

Πίνακας 7. Συσχέτιση κατά Pearson (Pearson product-moment correlation).

Από τον Πίνακα 7 δεν προκύπτει πιθανή γραμμική σχέση ( $p = 0.101 > 0.05$ ). Η μηδενική υπόθεση ( $H_0$ ) δεν απορρίπτεται.

Στη συνέχεια θα εξεταστεί η υπόθεση 2 ( $H_2$ ) με ανάλυση διακύμανσης για να επιβεβαιωθεί συσχέτιση.

Ακολουθεί ο Πίνακας 8 με τα στοιχεία της ανάλυσης One-Way ANOVA.

Πινάκας 8

**ANOVA**

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	184275,639	29	6354,332	6,555	,013
Within Groups	5816,000	6	969,333		
Total	190091,639	35			

Πινάκας 8. One-Way ANOVA. Σχέση ποσοστιαίας διαφοράς ιικού φορτίου και κρουσμάτων.

Από τον παραπάνω πίνακα προκύπτει ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ των δυο μεταβλητών ( $p=0.013 < 0.05$ ). Η υπόθεση H2 απορρίπτεται. Ισχύει η υπόθεση H3.

**4.8 Αποτελέσματα**

Από το σύνολο της στατιστικής ανάλυσης προκύπτει πως η μέση ποσοστιαία εβδομαδιαία μεταβολή του ιικού φορτίου SARS-CoV-2 στα λύματα (ανεξάρτητη μεταβλητή) και η ποσοστιαία εβδομαδιαία μεταβολή των κρουσμάτων (εξαρτημένη μεταβλητή) παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά στις μέσες τιμές των δύο ομάδων. Η μηδενική υπόθεση (H0) ισχύει ενώ η υπόθεση H2 απορρίπτεται και ισχύει η υπόθεση H3. Δηλαδή οι δυο μεταβλητές που εξετάζουμε σχετίζονται χωρίς αμφιβολία, αλλά όχι γραμμικά ώστε να μπορούμε να προβλέψουμε τα εβδομαδιαία κρούσματα.

Πιο συγκεκριμένα, οι αυξομειώσεις των δυο μεταβλητών παρουσιάζουν σχεδόν κοινή πορεία, δηλαδή φαίνεται η μία μεταβλητή να συμπαρασύρει την άλλη. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις προηγείται η μία έναντι της άλλης και αντίστροφα. Αυτό δύναται να οφείλεται σε ανακρίβειες στις μετρήσεις στα πρώιμα στάδια της πανδημίας. Τέτοιες μπορεί να είναι το πόσα άτομα εξετάζονταν, πόσα άτομα ήταν ασυμπτωματικά και δεν εξετάζονταν, καθώς επίσης και η πιθανότητα λάθος αρνητικού αποτελέσματος από self-test.

Λαμβάνοντας υπόψη μας τις περιόδους απαγόρευσης της κυκλοφορίας (lockdown) (εβδομάδα 6), παρατηρείται ότι 2 εβδομάδες μετά τον περιορισμό των επαφών και την κήρυξη γενικού lockdown στην χώρα ώστε σαν αποτέλεσμα να έχουμε, τη μείωση της διασποράς όλες οι μεταβλητές, και τα κρούσματα και το ιϊκό φορτίο στα λύματα, μειώνονται. Αντίστοιχα, μετά την σταδιακή αποκλιμάκωση (εβδομάδα 10), μέσα σε 4 εβδομάδες τα κρούσματα εκτοξεύτηκαν και τα λύματα ακολούθησαν την επόμενη εβδομάδα. Στο επόμενο διάστημα απαγόρευσης της κυκλοφορίας (εβδομάδα 36) παρατηρείται η ίδια πορεία, δηλαδή η σταδιακή ταυτόχρονη μείωση κρουσμάτων και ιϊκού φορτίου σε δυο εβδομάδες. Όλο το παραπάνω επιβεβαιώνει και ενισχύει το συμπέρασμα της ανωτέρω ανάλυσης.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αντικείμενο της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η συσχέτιση της ποσοστιαίας μεταβολής ιικού φορτίου SARS-CoV-2 των λυμάτων με τα καταγεγραμμένα κρούσματα της Αθήνας και τμημάτων της Αττικής. Χρησιμοποιώντας την επιτήρηση των λυμάτων, όπου αποτελούν έναν περιβαλλοντικό παράγοντα, οι αρχές πολλών χωρών, προλαμβάνουν έγκαιρα την δημιουργία εστιών μόλυνσης εντός των κοινοτήτων τους.

Η επιτήρηση λυμάτων για την ανεύρεση ανθρωπίνων παθογόνων που μπορεί να προκαλέσουν επιδημίες ή πανδημίες χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια ως εργαλείο προειδοποίησης των άρχων για την αντιμετώπιση κρίσιμων καταστάσεων και εξελίξεων στην υγεία των πολιτών. Μελέτες για τον ιό της πολιομυελίτιδας όπως οι Fong & Lipp 2020, Rusiñol & Girones 2017, La Rosa, et, all 2012, Gall et all 2015, έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της έκτασης της μόλυνσης και την έγκαιρη προειδοποίηση σε χώρες όπως Ινδία, Αίγυπτο, Ολλανδία, Φινλανδία, Ισραήλ, Βραζιλία, Κίνα κ.α.

Στην παρούσα επιδημία η χρησιμότητα της επιτήρησης λυμάτων επιβεβαιώθηκε από την έναρξη της σχεδόν και χρειάστηκε ένας κάλος συντονισμός σε μικρό χρονικό διάστημα ώστε να λειτουργήσει βοηθητικά στην προειδοποίηση για υπαρκτά κρούσματα εντός των κοινοτήτων. Η επιτήρηση των λυμάτων για την εξέλιξη της μετάδοσης εντός της κοινότητας αποτελεί επίσης οικονομικό εργαλείο προσέγγισης της κατάστασης όπως αναφέρεται και στην μελέτη Hamouda, ενώ καλύπτει και το ποσοστό των ασυμπτωματικών και προσυμπτωματικών όπου δεν προσμετρούνται στα καταγεγραμμένα κρούσματα. Το ποσοστό των ατόμων αυτών συμφωνά με την μελέτη Bivins et. al. 2020 αγγίζει σε ποσοστά 27-89%.

Από την Άνοιξη του 2020 έως και σήμερα πολλές έρευνες σε Αυστραλία , Ολλανδία, Η.Π.Α. κ.α. παρουσιάστηκαν για τις μετρήσεις των λυμάτων στην εποχή της πανδημίας. Αρκετές είναι εκείνες που ερευνητικό τους ενδιαφέρον αποτελεί η συσχέτιση των μεταβολών του ιικού φορτίου των λυμάτων σε συσχέτιση με τα καταγεγραμμένα κρούσματα, τις εισόδους σε νοσοκομεία, λειτουργώντας προφητικά για νέες διασπορές και προμηνύοντας την έκταση της μόλυνσης στις κοινότητες που εξετάζονταν. Στην μελέτη Wurtzer 2020, στην Αυστραλία, Medema et al. 2020 της Ολλανδίας, Peccia et al., 2020 έχουν αποδειχτεί ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων των λυμάτων και των προβλέψεων στα νέα κρούσματα.

Ο χρόνος πρόβλεψης των κρουσμάτων έχει παρουσιάσει πολλές διακυμάνσεις. Οι διακυμάνσεις αυτές οφείλονται στο γεγονός ότι ο χρόνος επώασης του ιού και εμφάνισης του στα κόπρανα, ούρα και άλλα βιολογικά υγρά που καταλήγουν στο αποχετευτικό σύστημα ποικίλει όπως αναφέρεται. Προκαλώντας προβληματισμούς ακόμη και σε μελέτες όπου αναφέρεται η πλήρη διαδικασία δειγματοληψίας,

επεξεργασίας, μέτρησης και ερμηνείας των αποτελεσμάτων, όπως οι μελέτες Mancini et. All, 2021, Peccia et. all, 2020, Medema, et. all, 2020, Alygakis et. all, 2021, D.Poloa, et all, 2020, Thomaidis et. all, 2021, D'Aouust et. all, 2021

Η διαφορές που παρατηρούνται στον υπολογισμό του χρόνου υστέρησης μεταξύ της ανίχνευσης του ιικού RNA στα λύματα και την εμφάνιση των κλινικών εκδηλώσεων της νόσου μπορεί να οφείλεται σε διαφορετικούς τρόπους δειγματοληψίας λυμάτων ,σε διαφορετικές αναλυτικές προσεγγίσεις στις μελέτες αλλά και σε παράγοντες που δεν σχετίζονται με την διαδικασία επεξεργασίας και ανάλυσης των λυμάτων άλλα στην διεξαγωγή ή μη διαγνωστικών τεστ ώστε να επιβεβαιωθεί η λοίμωξη άλλα και στον διαφορετικό χρόνο καταγραφής των θετικών κρουσμάτων από τις δημόσιες αρχές συμφωνά με την μελέτη Hamouda et. all,2021.

Στην παρούσα εργασία αποδείχτηκε ότι η μέση ποσοστιαία εβδομαδιαία μεταβολή του ιικού φορτίου SARS-CoV-2 στα λύματα και η ποσοστιαία εβδομαδιαία μεταβολή των κρουσμάτων σχετίζονται χωρίς αμφιβολία, αλλά όχι γραμμικά ώστε να μπορούν να προβλεφτούν τα εβδομαδιαία κρούσματα. Τα προς μελέτη στοιχεία που εξήφθησαν, ποσοστιαία μεταβολή ιικού φορτίου SARS-CoV-2 στα λύματα και ποσοστιαία εβδομαδιαία μεταβολή των κρουσμάτων, αποτέλεσαν δύο μεταβλητές αθέρατες λαμβανόμενες έτοιμα διαφοροποιημένες από μεταβολές, μοντελοποιήσεις, επεξεργασία όπου η χρήση τους δεν ήταν δυνατή στην συγκεκριμένη μελέτη. Παρόλα αυτά και πολύ ενθαρρυντικό αποτελεί το γεγονός ότι ακόμη και με έναν πιο απλουστευμένο τρόπο επεξεργασίας των δυο μεταβλητών, που χρησιμοποιούνται από τις υγειονομικές αρχές για την προσέγγιση της εξάπλωσης του ιού στην κοινότητα, αποδεικνύεται συσχέτιση των δυο αυτών κρίσιμων μεταβλητών.

Θα μπορούσε η συγκεκριμένη μελέτη να συγκριθεί με την μελέτη Peccia et al., 2020 στην οποία αναφέρεται ότι η μέτρηση ιικού φορτίου RNA υποδεικνύει θετικά κρούσματα 0-2 ημέρες πριν την διεξαγωγή διαγνωστικών τεστ. Δεδομένου των αυθημερόν αποτελεσμάτων της επιτήρησης του επιπολασμού των ημερήσιων κρουσμάτων. Παρόλα αυτά η παρούσα μελέτη στερείται στοιχείων όπου αναλύθηκαν στην παραπάνω μελέτη εξ' ου και δεν προκύπτει γραμμικότητα στην συσχέτιση.

Οι πιθανοί λόγοι όπου αποδεικνύεται ότι υπάρχει σύνδεση μεταξύ της εμφάνισης κρουσμάτων και των μετρήσεων του ιικού φορτίου στα λύματα αναφέρεται χαρακτηριστικά παρακάτω. Σημαντικό σημείο στην ανάλυση της συγκεκριμένης εργασίας αποτελεί όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4 η 6<sup>η</sup> εβδομάδα μέτρησης των κρουσμάτων διότι αποτελεί και την εβδομάδα έναρξης της πρώτης απαγόρευσης της κυκλοφορίας (lockdown) της Ελλάδος που ξεκίνησε 23/3/2020. Αυτή αποτέλεσε την εβδομάδα που σταμάτησε η διασπορά του ιού και πράγματι οι εβδομάδες που ακολούθησαν αποδεδειγμένα ακολούθησε η μείωση των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων και όπως παρατηρείται και η μείωση αντίστοιχα στις μετρήσεις του ιικού φορτίου των λυμάτων.

Η αποκλιμάκωση των μέτρων της καθολικής απαγόρευσης της κυκλοφορίας (lockdown) που είχε επιβληθεί στην Ελλάδα, έλαβε χώρα την 4 Μαΐου του 2020 κατά την 10<sup>η</sup>



εβδομάδα του διαγράμματος 6 και σε λίγες εβδομάδες ακολούθησε το άνοιγμα των αγορών, άρση των περιορισμών μετακινήσεων κ.α, παρατηρώντας κατακόρυφη αύξηση των καταγεγραμμένων κρουσμάτων άλλα και των μετρήσεων των λυμάτων για SARS-CoV-2.

Η δεύτερη απαγόρευση κυκλοφορίας ήρθε στις 7/11/2020 όπου αντιστοιχεί στην 36<sup>η</sup> εβδομάδα του διαγράμματος 6. Οι εβδομάδες που ακολούθησαν μετά από αυτήν και συγκεκριμένα οι 37<sup>η</sup> και 38<sup>η</sup> εβδομάδα παρατηρείται μείωση και στις δύο συνιστώσες που μελετώνται αποδεικνύοντας ότι οι μετρήσεις των λυμάτων μπορούν να προειδοποιήσουν τις δημόσιες αρχές για την εξέλιξη της επιδημιολογικής κατάστασης της περιοχής.

Συμφωνά και με την βιβλιογραφία οι μετρήσεις των λυμάτων παρουσιάζουν αρκετές διακυμάνσεις που μπορεί να οφείλονται ακόμη και στην μη σωστή διαδικασία λήψης (συμπεριλαμβανομένης της τοποθεσίας και της συχνότητας συλλογής) των λυμάτων προς μέτρηση. Γι' αυτό τον λόγο επιλέχθηκε στην στατιστική ανάλυση να απορριφθούν δύο εβδομάδες 9<sup>η</sup> και η 16<sup>η</sup>.

Πολλοί είναι οι παράγοντες όπου ενώ υπάρχει συσχέτιση δεν αποδεικνύεται γραμμικά. Η μελέτη Chen et. al 2020 παρατηρεί ότι τα δυο τρίτα του πληθυσμού που νόσου από SARS-CoV-2 παρουσιάζουν στα κόπρανα τους ιικό RNA ακόμη και μετά από αρνητικά ρινοφαρυγγικά αποτέλεσμα σε παρατεταμένο χρόνο. Η παρατεταμένη αποβολή του ιικού RNA του SARS-CoV-2 όπου ενώ προσμετράτε πλέον οι άνθρωποι μπορεί να έχουν αναρρώσει, πιθανόν να επηρεάζει τα αποτελέσματα συσχετίσεων.

Η κοινωνική κόπωση, η οικονομική αδυναμία αποτελούν επίσης λόγοι όπου αρκετά άτομα που αν και εφόσον εμφανίσουν συμπτώματα δεν δοκιμάζονται με διαγνωστικές μεθόδους για την καταγραφή τους ως κρούσμα. Επιπρόσθετα μετά την έναρξη των διεξαγωγών self-test δεν γνωρίζουμε τον πραγματικό αριθμό των κρουσμάτων εντός των κοινοτήτων. Τα self-test αποτελούν μια διαδικασία πολύ εύκολη, παρόλα αυτά δεν γνωρίζουμε αν όλοι που υποχρεούνται να κάνουν self-test, πραγματοποιούν την διαδικασία ή ακόμη και αν πράγματι την πραγματοποιούν αληθώς, αν η διαδικασία διεξαγωγής της συλλογής, η σωστή αποθήκευση, ο χρόνος διεξαγωγής ακολουθούνται από όλους όσους τα διεξάγουν. Όλα τα παραπάνω αποδεικνύουν ότι στην κοινότητα υπάρχουν κρούσματα τα οποία ηθελημένα η μη δεν καταγράφονται. Παρόλα αυτά κόπρανα με ιικό φορτίο του ιού μεταφέρονται στο αποχετευτικό σύστημα και εμφανίζεται σε μεγαλύτερη ποσότητα από τα καταγεγραμμένα κρούσματα. Δεδομένων των παραπάνω η γραμμική συσχέτιση είναι δύσκολο να συμβεί.

Παρόλα αυτά και όπως παρατηρείται και στην παρούσα εργασία, τα δεδομένα από τις μετρήσεις ιικού φορτίου στα λύματα σχετίζονται με τα καταγεγραμμένα κρούσματα και δείχνουν τις τάσεις εμφάνισης της νόσου καθώς και την εξέλιξη καθώς λαμβάνονται μέτρα περιορισμού του πληθυσμού για προφύλαξη. Καθιστώντας αυτόν τον τρόπο επιτήρησης της επιδημιολογικής κατάστασης των κοινοτήτων ιδιαίτερα ικανοποιητικό.

Την σημαντικότητα αυτού του τρόπου επιτήρησης της επιδημιολογικής κατάστασης με την επιτήρηση των λυμάτων την επικύρωσε η Ευρωπαϊκή Κοινότητα. Με την δημιουργία της ΣΥΣΤΑΣΗΣ (ΕΕ) 2021/472 καθώς και το HERA πραγματοποιώντας παγκόσμιες συνεργασίες ώστε τα ωφέλει της έγκαιρης προειδοποίησης από μια οικονομική λύση ως μεθοδολογία να μην αξιολογηθεί αρνητικά. Γεννήθηκε η ιδέα διαμοιρασμού πληροφοριών για κοινό όφελος και δημιουργήθηκαν πρωτόκολλα τα οποία ξεπερνούν τις δυσκολίες που αντιμετωπίζουν δύσκολα προς μελέτη δείγματα όπως τα λύματα. Τέτοια συνεργασία θα δώσει τέλος σε διαφορετικούς χρόνους εκτίμησης των εμφανίσεων νέων κρουσμάτων όπου προκαλούν προβληματισμούς στην γρήγορη εκτίμηση της αναδυόμενης κατάστασης καθώς και η διαφορετική προσέγγιση στις μεθοδολογίες των μετρήσεων των λυμάτων. Η εφαρμογή βέλτιστων τρόπων επεξεργασίας των λυμάτων σε συνδυασμό με έναν σωστά επικοινωνιακό τρόπο πλήρους καταγραφής των κρουσμάτων αποτελεί την καλύτερη αντιμετώπιση της πανδημίας, γι' αυτόν τον λόγο επιλέχθηκε παγκοσμία να υπάρξει μια διεπιστημονική συνεργασία στην αντιμετώπιση της παρούσας βιολογικής κρίσης.

Παρόλα τα ωφέλει από την προαναφερόμενη συνεργασία, η συγκέντρωση στοιχείων από των καταγεγραμμένων κρουσμάτων όπως και στην Ελλάδα είναι εύκολη. Τα καταγεγραμμένα κρούσματα αναφέρονται αναλυτικά σε ιστοσελίδες των αντιστοιχών υπηρεσιών που αντιμετωπίζουν την υγειονομική κρίση. Δυσκολία παρατηρήθηκε στις μετρήσεις ιικού φορτίου των λυμάτων. Πάρα την δημιουργία ιστοσελίδων όπως το COVID-19 WBE Collaborative οι μετρήσεις των συγκεντρώσεων αυτών δεν μοιράζονται σε πολίτες όπου θέλουν να ενημερωθούν για τις εξελίξεις της πανδημίας, και οι προσεγγίσεις σε επιστημονικά άρθρα δεν μπορεί να είναι εύκολα κατανοητές.

Στην εποχή του διαδικτύου και των γρήγορων πληροφοριών, η εύκολη προσέγγιση σε πληροφορίες που αποδεικνύουν συσχετίσεις ανά χώρα, πόλη ή ακόμη και μικρών δομών και μπορεί να εντείνουν την προσοχή των πολιτών ως προς τον περιορισμό της διασποράς θα ήταν επιθυμητό.

Μελλοντικά όταν η επιδημία πλέον δεν θα υφίσταται η επιτήρηση των λυμάτων για SARS-COV-2 άλλα και για άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς θα μπορούσε να αποτελεί το σήμα έναρξης μιας επιδημικής κατάστασης. Ο συγκεκριμένος τρόπος επιτήρησης εκτός του γεγονότος ότι αποτελεί οικονομικό τρόπο ελέγχου της καλής υγείας των κατοίκων που ελέγχονται, μπορεί να λειτουργήσει μέσω αναβαθμίσεων και οικονομικών ενισχύσεων σε μια εξαιρετικά γρήγορη μονάδα ειδοποίησης ακόμη και νέων κινδύνων που μπορεί να προκαλέσουν την ανθρώπινη υγεία.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε προσπάθεια συσχέτισης του ιικού φορτίου SARS-CoV-2 των λυμάτων με τα καταγεγραμμένα κρούσματα. Τα στοιχεία της στατιστικής ανάλυσης, συλλέχθηκαν από τους πίνακες των ημερήσιων εκθέσεων του ΕΟΔΥ και καταχωρήθηκαν σε φύλλα excel σε χρονικό διάστημα 39 εβδομάδων, από τον Μάρτιο έως τον Νοέμβριο του 2021. Το μεγάλο χρονικό αυτό διάστημα επιλέχθηκε ώστε τα δεδομένα που εξετάστηκαν να είναι αντιπροσωπευτικά της εξέλιξης της νόσου στην Αθήνα και σε άλλες περιοχές τις Αττικής και να εξεταστούν τα στοιχεία όπου το εύρος των τιμών των μεταβλητών μπορεί να αποδείξει την τάση εξέλιξης της νόσου SARS-CoV-2.

Μετά την συλλογή των δεδομένων, ακολούθησε κωδικοποίηση και αποθήκευση στο SPSS Statistics 27, όπου πραγματοποιήθηκαν στατιστικές αναλύσεις.

Το μέσο εβδομαδιαίο ιικό φορτίο SARS-CoV-2 στα λύματα όπως αναλύθηκε στην παραπάνω μελέτη δεν παρουσιάζει γραμμική σχέση με τη ποσοστιαία μεταβολή στα καταγεγραμμένα εβδομαδιαία κρούσματα αλλά συσχετίζεται με τη ποσοστιαία μεταβολή στα καταγεγραμμένα εβδομαδιαία κρούσματα και υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ των δυο μεταβλητών ( $p=0.013 < 0.05$ ).

Πάρα το γεγονός ότι ασυμπτωματικοί, προσυμπτωματικοί ασθενείς, άτομα που δεν εξετάζονται ή εμφανίζουν αρνητικό ή ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα στα self-test, δεν προσμετρούνται στα καταγεγραμμένα κρούσματα, η παρουσία του ιικού φορτίου που αποβάλλουν μεταφέρεται μέσω των κοπράνων στα λύματα με αποτέλεσμα να αποδεικνύεται συσχέτιση, εμφανίζοντας αυξομειώσεις των δύο μεταβλητών που παρουσιάζονται σε κοινή πορεία και όπως φαίνεται χαρακτηριστικά στο διάγραμμα 6 της στατιστικής ανάλυσης συνήθως η μία μεταβλητή να συμπαρασύρει την άλλη.

Το γεγονός ότι υπάρχει σημαντική σχέση μεταξύ των δύο μεταβλητών που εξετάστηκαν, ακόμα και με την χρήση πιο περιορισμένων στοιχείων, όπως στην παρούσα στατιστική ανάλυση αποδεικνύει ότι η επιτήρηση των λυμάτων αποτελεί ένα πολύ σημαντικό εργαλείο έλεγχου της εξάπλωσης του SARS-CoV-2 εντός των κοινοτήτων.

Ο συνδυασμός περιβαλλοντικών και κλινικών δεδομένων όταν ερμηνεύονται σωστά από τους ειδικούς, παρέχουν χρήσιμες επιδημιολογικές πληροφορίες οι οποίες αξιοποιούνται προς όφελος της προστασίας της δημόσιας υγείας.

## Βιβλιογραφία

1. Coronavirus Disease 2019–COVID-19  
Kuldeep Dhama, a, Sharun Khan, b, Ruchi Tiwari, c, Shubhankar Sircar, d, Sudipta Bhat, d, Yashpal Singh Malik, corresponding author d, Karam Pal Singh, a, Wanpen Chaicumpa, e, D. Katterine Bonilla-Aldana, f, g, h, and Alfonso J. Rodriguez-Morales
2. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003  
NS Zhong, BJ Zheng, YM Li, LLM Poon, ZH Xie, KH Chan, PH Li, SY Tan, Q Chang, JP Xie, XP Liu, J Xu, KY Yuen, JSM Peiris, Y Guan.
3. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus associated SARS pneumonia: a prospective study  
Peiris DPhil, CM Chu, VCC Cheng, KS Chan, Hung, Poon, DPhil, KI Law Tang CS Chan, KH Chan, Zheng, Lai, Guan
4. Corona Viruses: A Review on SARS, MERS and COVID-19 Nihala Naseefa Chathappady House, Sheeba Palissery, Honey Sebastian First Published March 19, 2021
5. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): A review  
Nour Ramadan, Houssam Shaib
6. Coronaviruses  
Christopher J. Burrell, Colin R. Howard, Frederick A. Murphy, 2016
7. Helena Jane Maier, Erica Bickerton, Paul Britton  
Coronaviruses Methods and Protocols Methods in Molecular Biology 1282 Springer Protocols eBook
8. Coronaviruses – a general introduction  
Jeffrey K Aronson March 25, 2020
9. Evolutionary study of COVID-19, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as an emerging coronavirus: Phylogenetic analysis and literature review  
Alireza Tabibzadeh, Maryam Esghaei, Saber Soltani, Parastoo Yousefi, Mahsa Taherizadeh, Fahimeh Safarnezhad Tameshkel, Mahsa Golahdooz, Mahshid Panahi, Hossein Ajdarkosh, Farhad Zamani, Mohammad Hadi Karbalaie Niy, 2020
10. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein

Alexandra C.Walls, Young-Jun Park, M. Alejandra Tortorici, Abigail Wall, Andrew T.Mc Guire, David Veessler.

11. Scrutinizing Coronaviruses Using Publicly Available Bioinformatic Tools: The Viral Structural Proteins as a Case Study  
Sonia Beeckmans and Edilbert Van Driessche
12. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2  
Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses  
Nature Microbiology volume 5, pages 536–544 (2020)
13. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses  
Muhammad Adnan, Shereenb Suliman, Khana Abeer Kazmic Nadia Bashirb, Rabeea Siddiquea. 2020
14. Distribution of COVID-19 and Phylogenetic Tree. Construction of SARS-CoV-2 in Indonesia  
Dora Dayu Rahma Turista<sup>1</sup>, Aesthetica Islamy, Viol Dhea Kharisma and Arif Nur Muhammad Ansori, May, 2020
15. Molecular Basis of Pathogenesis of Coronaviruses: A Comparative Genomics Approach to Planetary Health to Prevent Zoonotic Outbreaks in the 21st Century  
Purva Asrani, Gulam Mustafa Hasan, Sukhwinder Singh Sohal, and Md. Imtaiyaz Hassan
16. A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2  
Yong-Zhen Zhang, Edward C. Holmes
17. <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2020/03/covid-19-ergastiriaki-diagnosi.pdf>
18. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China  
Fan Wu, Su Zhao, Bin Yu, Yan-Mei Chen, Wen Wang, Zhi-Gang Song, Yi Hu, Zhao-Wu Tao, Jun-Hua Tian, Yuan-Yuan Pei, Ming-Li Yuan, Yu-Ling Zhang, Fa-Hui Dai, Yi Liu, Qi-Min Wang, Jiao-Jiao Zheng, Lin Xu, Edward C. Holmes & Yong-Zhen Zhang
19. Full-genome sequences of the first two SARS-CoV-2 viruses from India  
Pragya D. Yadav, Varsha A. Potdar, Manohar Lal Choudhary, Dimpal A. Nyayanit, Megha Agrawal, Santosh M. Jadhav, Triparna D. Majumdar, Anita Shete-Aich, Atanu Basu, Priya Abraham, and Sarah S. Cherian

20. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019 List of authors.  
Na Zhu, Ph.D., Dingyu Zhang, M.D., Wenling Wang, Ph.D., Xingwang Li, M.D.,  
Bo Yang, M.S., Jingdong Song, Ph.D., Xiang Zhao, Ph.D., Baoying Huang, Ph.D.,  
Weifeng Shi, Ph.D., Roujian Lu, M.D., Peihua Niu, Ph.D., Faxian Zhan, Ph.D., et  
al., for the China Novel Coronavirus Investigating and Research Team
21. Establishment of the WHO International Standard and Reference Panel for anti-  
SARS-CoV-2 antibody.  
Giada Mattiuzzo<sup>1</sup>, Emma M. Bentley<sup>1</sup>, Mark Hassall, Stephanie Routley, Samuel  
Richardson, Valentina Bernasconi, Paul Kristiansen, Heli Harvala, David Roberts  
, Malcom G Semple, Lance CW Turtle, Peter JM Openshaw and Kenneth Baillie  
on behalf of the ISARIC Investigators, Lise Sofie Haug Nissen-Meyer, Arne Broch  
Brantster, Helen Baxendale, Eleanor Atkinson, Peter Rigsby, David Padley, Neil  
Almond, Nicola J. Rose, Mark Page and the collaborative study participants
22. The Morphology of Three Previously Uncharacterized Human Respiratory Viruses  
that Grow in Organ Culture  
June D. Almeida, DAJ Tyrrell
23. Hamre D., Procknow J. J. 1966;  
A new virus isolated from the human respiratory tract
24. Coronaviruses – a general introduction March 25, 2020 Jeffrey K Aronson Centre  
for Evidence-Based Medicine, Nuffield Department of Primary Care Health  
Sciences University of Oxford
25. Human Coronaviruses: What Do They Cause?  
Lia Van Der Hoek First Published January 1, 2007
26. Effect of SARS-CoV-2 proteins on vascular permeability  
Rossana Rauti, Meishar Shahoha, Yael Leichtmann-Bardoogo, Rami Nasser, Eyal  
Paz, Rina Tamir, Victoria Miller, Tal Babich, Kfir Shaked, Avner Ehrlich,  
Konstantinos Ioannidis, Yaakov Nahmias, Roded Sharan, Uri Ashery, Ben Meir  
Maoz
27. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human  
coronaviruses  
Muhammad Adnan Shereenb, Suliman Khana, Abeer Kazmic, Nadia Bashirb,  
Rabeaa Siddique.
28. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus  
isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan

Jasper Fuk-Woo Chan, Kin-Hang, Zheng Zhu, Hin Chu, Kelvin Kai-Wang, Shuofeng Yuan & Kwok-Yung Yuen

29. Role of Structural and Non-Structural Proteins and Therapeutic Targets of SARS-CoV-2 for COVID-19

Rohitash Yadav, Jitendra Kumar Chaudhary, Neeraj Jain, Pankaj Kumar Chaudhary, Supriya Khanra, Puneet Dhamija, Ambika Sharma, Ashish Kumar, and Shailendra Handu

30. Scrutinizing Coronaviruses Using Publicly Available Bioinformatic Tools: The Viral Structural Proteins as a Case Study

Sonia Beeckmans and Edilbert Van Driessche

31. Coronavirus Disease 2019–COVID-19

Kuldeep Dhama, Sharun Khan, Ruchi Tiwari, Shubhankar Sircar, Sudipta Bhat, Yashpal Singh Malik, Karam Pal Singh, Wanpen Chaicumpa, D. Katterine Bonilla-Aldana, and Alfonso J. Rodriguez-Morales

32. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development

Mei-Yue Wang, Rong Zhao, Li-Juan Gao, Xue-Fei Gao, De-Ping Wang, and Ji-Min Cao

33. Molecular mechanisms of the novel coronavirus SARS-CoV-2 and potential anti-COVID19 pharmacological targets since the outbreak of the pandemic

Dimitrios Vlachakis, Eleni Papakonstantinou, Thanasis Mitsis, Katerina Pierouli, Io Diakou, George Chrousos, and Flora Bacopouloub,

34. The incubation period of COVID-19: A meta-analysis

Christelle Elias, Abel Sekri, Pierre Leblanc, Michel Cucherat, Philippe Vanhems

35. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion

Shuai Xia, Meiqin Liu, Chao Wang, Wei Xu, Qiaoshuai Lan, Siliang Feng, Feifei Qi, Linlin Bao, Lanying Du, Shuwen Liu, Chuan Qin, Fei Sun, Zhengli Shi, Yun Zhu, Shibo Jiang & Lu Lu

36. The incubation period of COVID-19: a global meta-analysis of 53 studies and a Chinese observation study of 11 545 patients

Cheng Cheng, DongDong Zhang, Dejian Dang, Juan Geng, Peiyu Zhu, Mingzhu Yuan, Ruonan Liang, Haiyan Yang, Yuefei Jin, Jing Xie, Shuaiyin Chen, and Guangcai Duan

37. Incubation period of COVID-19: A systematic review and meta-analysis

J.A.Quesada, A.López-Pinedaa,V.F Gil-Guilléna, J.M Arriero-Marínb,  
F.Gutiérrezac, C.Carratala-Munuera

38. Wastewater surveillance for SARS-CoV-2: Lessons learnt from recent studies to define future applications  
Mohamed Hamouda, Farah Mustafab, Munjed Maraqa, Tahir Rizvi, Ashraf Aly Hassan
39. Estimating the Prevalence of Asymptomatic COVID-19 Cases and Their Contribution in Transmission - Using Henan Province, China, as an Example  
Chunyu Li , Yuchen Zhu , Chang Qi , Lili Liu , Dandan Zhang , Xu Wang , Kaili She , Yan Jia , Tingxuan Liu , Daihai He , Momiao Xiong and Xiujun Li
40. Prevalence of Asymptomatic SARS-CoV-2  
Daniel P. Oran, AM, Eric J. Topol, MD
41. [https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab\\_3](https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_3)
42. [https://www-cdc-gov.translate.goog/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html?\\_x\\_tr\\_sl=en&\\_x\\_tr\\_tl=el&\\_x\\_tr\\_hl=en-US&\\_x\\_tr\\_pto=op,sc](https://www-cdc-gov.translate.goog/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=el&_x_tr_hl=en-US&_x_tr_pto=op,sc)
43. Is SARS-CoV-2 Also an Enteric Pathogen With Potential Fecal–Oral Transmission? A COVID-19 Virological and Clinical Review  
Siyuan Ding, T. Jake Liang
44. Targeting ACE2 for COVID-19 Therapy: Opportunities and Challenges  
Hongpeng Jia , Enid Neptune , and Honggang Cui
45. Molecular Mechanisms Lead to Sex-Specific COVID-19 Prognosis and Targeted Therapies  
Thushara Galbadage, Brent M. Peterson, Jeffrey S. Wang, Avishka Jayasekara, Danny A. Ramirez, Joseph Awada, John P. Walsh and Richard S. Gunasekera
46. From ACE2 to COVID-19: A multiorgan endothelial disease  
Richard A. Stein, Lauren M. Young
47. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells  
Markus Hoffmann, Hannah Kleine-Weber, Nadine Krüger, Marcel Müller, Christian Drosten, Stefan Pöhlmann
48. SARS-CoV-2, SARS-CoV-1 and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding and infectiousness – a living systematic review and meta-analysis



Muge Cevik, Matthew Tate, Ollie Lloyd, Alberto Enrico Maraolo, Jenna Schafers, Antonia Ho

49. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes  
Wei Zhang, Rong-Hui Du, Bei Li, Xiao-Shuang Zheng, Xing-Lou Yang, Ben Hu, Yan-Yi Wang, Geng-Fu Xiao, Bing Yana
50. The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients  
Yifei Chen MD, Liangjun Chen MD, Qiaoling Deng MD, Guqin Zhang MD, Kaisong Wu MD, Lan Ni MD, Yibin Yang MD, Bing Liu MD, Wei Wang MD, Chaojie Wei MD, Jiong Yang MD, Guangming Ye MD, Zhenshun Cheng MD
51. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples From a Hong Kong Cohort: Systematic Review and Meta-analysis  
Ka Shing Cheung, Ivan F.N. Hung, Pierre P.Y. Chan, K.C. Lung, Eugene Tso, Raymond Liu, Y.Y. Ng, Man Y. Chu, Tom W.H. Chung, Anthony Raymond Tam, Cyril C.Y. Yip, Kit-Hang Leung, Agnes Yim-Fong Fung, Ricky R. Zhang, Yansheng Lin, Ho Ming Cheng, Anna J.X. Zhang, Kelvin K.W. To, Kwok-H. Chan, Kwok-Y. Yuen, Wai K. Leung
52. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions>
53. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR  
Victor M Corman, Olfert Landt, Marco Kaiser, Richard Molenkamp, Adam Meijer, Daniel KW Chu, Tobias Bleicker, Sebastian Brünink, Julia Schneider, Marie Luisa Schmidt, Daphne GJC Mulders, Bart L Haagmans, Bas van der Veer, Sharon van den Brink, Lisa Wijsman, Gabriel Goderski, Jean-Louis Romette, Joanna Ellis, Maria Zambon, Malik Peiris, Herman Goossens, Chantal Reusken, Marion PG Koopmans, and Christian Drosten
54. Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020  
Rui Liu, Hua Han, Fang Liub, Zhihua Lv, Kailang Wub, Yingle Liu, Yong Feng, Chengliang Zhu
55. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/public-health-impact-sars-cov-2-variants-concern-scoping-review-protocol> , 2021
56. <https://eody.gov.gr/enimerotiko-yliko-gia-iatroys-toyristikon-katalymaton-covid-19/>
57. <https://www.scorewater.eu/>

58. Identification of multiple potential viral diseases in a large urban center using wastewater surveillance  
Camille McCall, Huiyun Wu, Brijen Miyani, Irene Xagorarakis
59. Emerging and potentially emerging viruses in water environments  
Giuseppina La Rosa, Marta Fratini, Simonetta della Libera, Marcello Iaconelli and Michele Muscillo
60. SUMMARY OF EXCRETED AND WATERBORNE VIRUSES  
Marta Rusiñol, Rosina Girones
61. Waterborne Viruses: A Barrier to Safe Drinking Water  
Aimee M. Gall, Benito J. Mariñas, Yi Lu, Joanna L. Shisler
62. Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools  
Theng-Theng Fong, Erin K. Lipp
63. Tracking COVID-19 with wastewater  
David A. Larsen & Krista R. Wigginton 2020
64. Wastewater surveillance for SARS-CoV-2: Lessons learnt from recent studies to define future applications  
Mohamed Hamouda, Farah Mustafab, Munjed Maraqa, Tahir Rizvi, Ashraf Aly Hassan 2022
65. Change in the chemical content of untreated wastewater of Athens, Greece under COVID-19 pandemic  
Nikiforos Alygizakis, Aikaterini Galani, Nikolaos I. Rousis, Reza Aalizadeh, Meletios-Athanasios Dimopoulos, Nikolaos S. Thomaidis
66. ΟΔΗΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ, ΑΠΟ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΓΙΑ ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ  
[https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2018/12/apovl4\\_deigma\\_sist\\_epex\\_ygrwn\\_apovlitwn\\_xim\\_anal.pdf](https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2018/12/apovl4_deigma_sist_epex_ygrwn_apovlitwn_xim_anal.pdf)
67. 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  
Warish Ahmed, Nicola Angel, Janette Edson, Kyle Bibby, Aaron Bivins, Jake W.O'Brien, Phil M. Choid, Masaaki Kitajima, Stuart L. Simpson, Jiaying Lid, Ben

Tscharke, Rory Verhagen, Wendy J.M.Smith, Julian Zaugg, Leanne Dierens, Philip Hugenholtz, Kevin V.Thomas, Jochen F.Mueller

68. Patterns of pharmaceuticals use during the first wave of COVID-19 pandemic in Athens, Greece as revealed by wastewater-based epidemiology  
Aikaterini Galani, Nikiforos Alygizakis, Reza Aalizadeh, Efsthios Kastritis, Meletios-Athanasios Dimopoulos, Nikolaos S.Thomaidis
69. 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  
Gertjan Medema, Leo Heijnen, Goffe Elsinga, Ronald Italiaander, and Anke Brouwer
70. Wastewater-Based Epidemiology: Global Collaborative to Maximize Contributions in the Fight Against COVID-19  
Aaron Bivins, Devin North, Arslan Ahmad, Warish Ahmed, Eric Alm, Frederic Been, Prosun Bhattacharya, Lubertus Bijlsma, Alexandria B. Boehm, Joe Brown, Gianluigi Buttiglieri, Vincenza Calabro, Annalaura Carducci, Sara Castiglioni, Zeynep Cetecioglu Gurol, Sudip Chakraborty, Federico Costa, Stefano Curcio, Francis L. de los Reyes III, Jeseth Delgado Vela, Kata Farkas, Xavier Fernandez-Casi, Charles Gerba, Daniel Gerrity, Rosina Girones, Raul Gonzalez, Eiji Haramoto, Angela Harris, Patricia A. Holden, Md. Tahmidul Islam, Davey L. Jones, Barbara Kasprzyk-Hordern, Masaaki Kitajima, Nadine Kotlarz, Manish Kumar, Keisuke Kuroda, Giuseppina La Rosa, Francesca Malpei, Mariana Mautus, Sandra L. McLellan, Gertjan Medema, John Scott Meschke, Jochen Mueller, Ryan J. Newton, David Nilsson, Rachel T. Noble, Alexander van Nuijs, Jordan Peccia, T. Alex Perkins, Amy J. Pickering, Joan Rose, Gloria Sanchez, Adam Smith, Lauren Stadler, Christine Stauber, Kevin Thomas, Tom van der Voorn, Krista Wigginton, Kevin Zhu, and Kyle Bibby.
71. Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics  
Jordan Peccia, Alessandro Zulli, Doug E. Brackney, Nathan D. Grubaugh, Edward H. Kaplan, Arnau Casanovas-Massana, Albert I. Ko, Aryn A. Malik, Dennis Wang, Mike Wang, Joshua L. Warren, Daniel M. Weinberger, Wyatt Arnold & Saad B. Omer
72. SARS-CoV-2 has been circulating in northern Italy since December 2019: Evidence from environmental monitoring  
Giuseppina La Rosa, Pamela Mancini, Giusy Bonanno Ferraro, Carolina Veneri, Marcello Iaconelli, Lucia Bonadonna, Luca Lucentini, and Elisabetta Suffredini
73. Quantitative analysis of SARS-CoV-2 RNA from wastewater solids in communities with low COVID-19 incidence and prevalence

Patrick M.D'Aoust, Elisabeth Mercier, Danika Montpetit, Jian-JunJia, Ilyan Alexandrov, Nafisa Neault, Aiman Tariq Baig, Janice Mayne, Xu Zhang, Tommy Alain, Marc-André Langlois, Mark R.Servosh, Malcolm MacKenzie, Daniel Figeyssef, Alex E.MacKenzie, Tyson E.Grabber, Robert Delatolla

74. SARS-CoV-2 wastewater surveillance data can predict hospitalizations and ICU admissions

Aikaterini Galani, Reza Aalizadeh, Marios Kostakis, Athina Markou, Nikiforos Alygizakis, Theodore Lytras, Panagiotis G. Adamopoulos, Jordan Peccia, David C. Thompson, Aikaterini Kontou, Apostolos Karagiannidis, Evi S. Lianidou, Margaritis Avgeris, Dimitrios Paraskevis, Sotirios Tsiodras, Andreas Scorilas, Vasilis Vasiliou, Meletios-Athanasios Dimopoulos, and Nikolaos S. Thomaidis

75. Wastewater-based estimation of the effective reproductive number of SARS-CoV-2

Jana S. Huisman, Jérémie Scire, Lea Caduff, Xavier Fernandez-Cassi, Pravin Ganesanandamoorthy, Anina Kull, Andreas Scheidegger, Elyse Stachler, Alexandria B. Boehm, Bridgette Hughes, Alisha Knudson, Aaron Topol, Krista R. Wigginton, Marlene K. Wolfe, Tamar Kohn, Christoph Ort, Tanja Stadler, Timothy R. Julian

76. Scaling SARS-CoV-2 Wastewater Concentrations to Population Estimates of Infection

Edward H. Kaplan, Alessandro Zulli, Marcela Sanchez, Jordan Peccia

77. [https://www.who.int/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers#tab=tab_1)

78. [https://www.who.int/health-topics/severe-acute-respiratory-syndrome#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/severe-acute-respiratory-syndrome#tab=tab_1)

79. COVIDPoops19 Summary of Global SARS-CoV-2 Wastewater Monitoring Efforts by UC Merced Researchers

<https://www.arcgis.com/apps/dashboards/c778145ea5bb4daeb58d31afee389082>

80. COVID-19 wastewater epidemiology: a model to estimate infected populations

Christopher S McMahan, Stella Self, Lior Rennert, Corey Kalbaugh, Prof David Kriebel, Duane Graves, Cameron Colby, Jessica A Deaver, Sudeep C Popat, Prof Tanju Karanfil, Prof David L Freedman.