



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΙΤΛΟΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι ιοί ως δείκτες μόλυνσης από οικιακά λύματα σε
υδατικά περιβάλλοντα

«Ανδρονίκη Καρτσαμάρη»

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: «Ζαχαρούλα Κυριακοπούλου»

Λάρισα, Σεπτέμβριος 2025

Περίληψη

Η παρούσα πτυχιική εργασία εστιάζει στη διερεύνηση των ιών ως δείκτες ρύπανσης από οικιακά λύματα σε υδατικά περιβάλλοντα. Παρότι η μικροβιολογική ποιότητα του νερού εκτιμάται κυρίως με βακτηριακούς δείκτες, οι ιοί αποτελούν κρίσιμο παράγοντα λόγω της ανθεκτικότητάς τους, της χαμηλής μολυσματικής δόσης και της ευρείας παρουσίας τους στα λύματα. Εντερικοί ιοί όπως οι αδενοϊοί (AdV), οι polyomavirus (PyV) και οι aichivirus (AiV), παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως δείκτες, καθώς σχετίζονται αποκλειστικά με τον άνθρωπο και επιτρέπουν την αναγνώριση της προέλευσης της ρύπανσης. Επιπλέον, ιοί όπως οι crAssphage και PMMoV, αν και μη παθογόνοι, έχουν συσχετιστεί με ανθρώπινης προέλευσης λύματα και μπορούν να συμβάλουν στην παρακολούθηση της ρύπανσης. Η μελέτη ανέδειξε την αξιοπιστία των AdV ως βασικών δεικτών λόγω της σταθερότητάς τους και της ευκολίας εντοπισμού. Παράλληλα, υπογραμμίζεται η ανάγκη για ανάπτυξη νέων τεχνολογιών και τυποποιημένων μεθόδων ανίχνευσης, όπως οι τεχνικές qPCR, οι βιοαισθητήρες και τα μικρορευστομηχανικά συστήματα. Η χρήση αυτών των ιών σε μαθηματικά μοντέλα εκτίμησης κινδύνου και η ενσωμάτωσή τους σε κανονιστικά πλαίσια θα μπορούσε να ενισχύσει σημαντικά την προστασία της δημόσιας υγείας. Συμπερασματικά, η μελέτη επιβεβαιώνει ότι η ενσωμάτωση ιογενών δεικτών στην παρακολούθηση της ποιότητας του νερού είναι απαραίτητη για την αποτελεσματικότερη ανίχνευση ρύπανσης και την πρόληψη μετάδοσης ιογενών ασθενειών μέσω του υδάτινου κύκλου.

Λέξεις – Κλειδιά: Ιοί, Δείκτες ρύπανσης, Οικιακά λύματα, Εντερικοί ιοί (AdV, PyV, AiV), Υδατικά περιβάλλοντα

Viruses as indicators of contamination from domestic wastewater in aquatic environments

Abstract

This thesis investigates the use of viruses as indicators of pollution from domestic wastewater in aquatic environments. While microbial water quality is typically assessed using bacterial indicators, viruses represent a critical factor due to their resilience, low infectious dose, and widespread presence in sewage. Enteric viruses such as adenoviruses (AdV), polyomaviruses (PyV), and aichiviruses (AiV) are of particular interest as they are human-specific and help trace the origin of contamination. Additionally, viruses like crAssphage and PMMoV, though non-pathogenic, are associated with human waste and contribute to monitoring efforts. The study highlights the reliability of AdVs as key indicators due to their stability and ease of detection. It also emphasizes the need for further development of advanced technologies and standardized detection methods, including qPCR, biosensors, and microfluidic systems. Incorporating these viruses into risk assessment models and regulatory frameworks could significantly enhance public health protection. In conclusion, the research confirms that integrating viral indicators into water quality monitoring systems is essential for more accurate detection of contamination and effective prevention of waterborne viral disease transmission.

Keywords: Viruses, Pollution indicators, Domestic wastewater, Enteric viruses (AdV, PyV, AiV), Aquatic environments

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της πτυχιακής εργασίας. Πρώτα απ' όλα, ευχαριστώ την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κ. Ζαχαρούλα Κυριακοπούλου, για την πολύτιμη καθοδήγηση, υποστήριξη και τις συμβουλές καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης μου.

Θα ήθελα επίσης να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου, που με αμέριστη αγάπη και στήριξη στάθηκε πάντα δίπλα μου, προσφέροντάς μου δύναμη και ενθάρρυνση σε κάθε βήμα αυτής της προσπάθειας.

Τέλος, ευχαριστώ όλους όσους με βοήθησαν με οποιονδήποτε τρόπο, άμεσα ή έμμεσα, ώστε να φτάσω στην ολοκλήρωση αυτής της σημαντικής εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.

Περίληψη.....	1
Κατάλογος Πινάκων	6
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια.....	8
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 ΚΥΡΙΕΣ ΠΗΓΕΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ	10
1.1.1.....	<i>ΟΙΚΙΑΚΑ ΛΥΜΑΤΑ</i> 14
1.2 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ16	
1.2.1.....	<i>ΥΓΕΙΑ ΤΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ</i> 18
1.2.2	<i>ΠΟΣΟΣΤΑ ΚΑΙ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΕΠΙΔΗΜΙΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΚΑΤΑΓΡΑΦΕΙ</i> <i>ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΙΟΥΣ</i> 20
1.3 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΙΩΝ ΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΥΔΑΤΑ.....	33
2. ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ	37
2.1 ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ (FIB).....	38
2.1.1	<i>ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΣΙΜΟΥ FIB ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ</i> <i>ΠΑΡΑΛΙΑΣ ΑΝΑΨΥΧΗΣ ΣΕ SEQ</i> 39
2.2 ΈΛΕΓΧΟΣ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ: ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΔΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΙΩΝ ΣΤΑ ΛΥΜΑΤΑ.....	40
2.2.1	<i>ΠΡΟΣΡΟΦΙΣΗ-ΕΚΛΟΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ (VIRADEL)</i> 41
2.2.2	<i>ΥΠΕΡΔΙΗΘΗΣΗ</i> 42
2.2.3	<i>ΑΜΕΣΗ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗ ΜΕ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΖΗ</i> 43
2.2.4	<i>Η ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΡΟΚΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ</i> 44
2.2.5	<i>ΥΠΕΡΦΥΤΟΚΕΝΤΡΗΣΗ</i> 45
2.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΙΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ	46
2.3.1	<i>PCR</i> 46
2.3.2	<i>DD PCR</i> 47
2.3.3	<i>ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ (NGS)</i> 47
2.3.4	<i>ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ DNA, ΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ DNA, ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΩΜΑΤΑ</i> <i>ΓΟΝΙΔΙΩΝ Ή ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΕ ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΩΜΑ</i> 49
2.3.6	<i>ΧΡΩΣΗ ΠΚΩΝ ΝΟΥΚΛΕΙΝΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ</i> <i>ΦΘΟΡΟΧΡΩΜΑΤΩΝ</i> 50
2.3.7	<i>ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ</i> 50
2.3.8	<i>ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΕΣ</i> 51
3.2.9	<i>ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ</i> 53
2.5	<i>ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΚΑΙ ΟΡΘΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ</i> 54
3. ΠΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΤΩΝ ΟΙΚΙΑΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ.....	59
3.1 ΠΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ	63
3.2 ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΩΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΑ ΙΟΓΕΝΟΥΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ	63
3.3 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΠΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	64

3.3.1 ΠΟΙΟΙ ΙΟΙ ΕΧΟΥΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ	65
3.3.2 ΠΟΙΟΙ ΠΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΙΝΑΙ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΙ.....	66
3.4 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΙΟΓΕΝΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ	68
3.4.1 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 1. ΕΥΚΟΛΙΑ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ	68
3.4.2 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 2. ΈΝΩΣΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ	70
3.4.3 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 3. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΕ ΥΨΗΛΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΣΤΑ ΛΥΜΑΤΩΝ.....	72
3.4.4 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 4. ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΛΥΜΑΤΩΝ.....	73
3.4.5 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 5. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ.....	75
3.4.6 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 6. ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ	78
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ.....	80
Βιβλιογραφία.....	82

Κατάλογος Πινάκων

- Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά σημειακών και μη σημειακών πηγών, χημικών εισροών στα ύδατα υποδοχής (adapted from Carpenter et al., 1998), σελ. 14
- Πίνακας 2. Η παρουσία αδενοϊού στο νερό του ποταμού, σελ. 26-27-28
- Πίνακας 3. Παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση του εντερικού ιού στο νερό σελ. 37-38
- Πίνακας 4. Ανθρώπινοι παθογόνοι ιοί που ανιχνεύθηκαν στο υδάτινο περιβάλλον, σελ. 64-65

Κατάλογος εικόνων

- Εικόνα 1. Τα μεγάλα αστικά κέντρα προκαλούν μόλυνση των υδάτων, σελ. 16
- Εικόνα 2. Μολυσμένο νερό με πλαστικά απόβλητα, σελ. 18
- Εικόνα 3. Μολυσμένο ποτάμι από οικιακά και βιομηχανικά απόβλητα, σελ. 20
- Εικόνα 4. Παιδιά που συλλέγουν νερό από μολυσμένη πηγή, σελ. 21
- Εικόνα 5. Δομές ορισμένων από τους ιούς που έχουν ανιχνευθεί σε πηγές νερού, σελ. 23
- Εικόνα 6. Απεικόνιση του ροταιού, σελ. 25
- Εικόνα 7 Α) σημεία δειγματοληψίας στο Navotas Fish Port και στο Centennial Park (θαλασσίνο νερό) και Β) σημεία δειγματοληψίας στο Angono Lakeside Eco Park, Angono, Rizal (γλυκά ύδατα), σελ. 26
- Εικόνα 8. Γεωγραφικός χάρτης των χωρών που μελετούν το νερό του ποταμού που αναφέρεται στις μελέτες, σελ. 28
- Εικόνα 9. Συνθήκες διαβίωσης που σχετίζονται με θετικά κρούσματα αστροϊού, σελ. 29
- Εικόνα 10. Χάρτης της Φινλανδίας; Οι κύκλοι δείχνουν την κατανομή των υδατογενών εστιών νοροϊού, 1998-2003, σελ. 31
- Εικόνα 11. Μηνιαία κατανομή των υδατογενών εστιών, συμπεριλαμβανομένων των εστιών νοροϊού, Φινλανδία, 1998-2003, σελ. 31
- Εικόνα 12. Απεικόνιση του ιού HAV, σελ. 32
- Εικόνα 13. Απεικόνιση του ιού HEV, σελ. 34
- Εικόνα 14. Συγκεντρώσεις *Escherichia coli* και *Enterococcus* spp. σε δείγματα νερού που συλλέχθηκαν από 12 παραλίες αναψυχής στο νοτιοανατολικό Κουίνσλαντ της Αυστραλίας. σελ. 43
- Εικόνα 15. Συσκευή προσρόφησης και έκλυσης ιών (VIRADEL) που χρησιμοποιεί NanoCeram θετικά φορτισμένα πτυχωτά φίλτρα φυσιγγίων, σελ. 45
- Εικόνα 16. Φυγοκεντρικό φίλτρο Centricon Plus-70 με μοριακό βάρος 30 kDa, σελ. 46
- Εικόνα 17. Τεχνική κροκίδωσης του αποκορυφώμενου γάλακτος, σελ. 48
- Εικόνα 18. Υπερφυγοκέντριση, σελ. 49
- Εικόνα 19. Μέθοδος PCR, σελ. 50
- Εικόνα 20. Βιοαισθητήρας, σελ. 55

- Εικόνα 21. Χάρτης που απεικονίζει τα σημεία δειγματοληψίας όπου έχουν ανιχνευθεί ιικοί δείκτες σε ανεπεξέργαστα λύματα (κόκκινο), επεξεργασμένα λύματα (κίτρινο), επιφανειακά γλυκά ύδατα (μπλε), υπόγεια ύδατα (πράσινο), θαλασσινό νερό (μωβ). σελ. 66
- Εικόνα 22. Ανθρώπινος ιός Aichi ο οποίος προκαλεί γαστρεντερίτιδα στους ανθρώπους σελ. 67

Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

EVs: Εντεροϊοί

Ροταϊοί (RVs),

Αδενοϊοί (AdVs),

Νοροϊοί (NVs),

Πολυοϊοί (PVs)

Ιοί της ηπατίτιδας Α (HAV)

Αστροϊοί (AVs),

Συνδυασμένες εκροές ακαθαρσιών (CSOs)

Βιολογική ζήτηση οξυγόνου (BOD),

Χημική ζήτηση οξυγόνου (COD),

Συνολικά αιωρούμενα στερεά (TSS),

Ιός της ηπατίτιδας Ε (HEV),

Παγκόσμια Μελέτη Επιπτώσεων Υγείας (GBD),

Μεθόδους ανίχνευσης (PCR),

Κατακρήμνιση (PEG),

Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO),

Ιός coxsackie Α (CVA)

Κοπρανώδη κολοβακτηρίδια (FIB)

Συμβούλιο Περιβάλλοντος και Διατήρηση της Αυστραλίας και Νέας Ζηλανδίας (ANZECC),

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράση (PCR),

Μονάδες σχηματισμού αποικιών (CFU),

Μονάδα μέτρησης μοριακής μάζας (kDa),

Βακτηριοφάγος (MS2),

Ιός ήπιου μωσαικού πιπεριάς (PMMoV),

Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος (EPA),

Φωτοκαταλυτικοί μεμβρανικοί αντιδραστήρες (PBR),

Δείκτης παρακολούθησης μικροβιακής πηγής (MST),

Λογαριθμικός βαθμός μείωσης ενός ρύπου (LRV),

Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων (WWTP),

Υπεριώδης ακτινοβολία (UV)

Ανοσομαγνητική διαχωριστική μέθοδος (IMS),
Ανθρώπινοι πολυομαιοί (JCV-BK)

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Παθογόνοι μικροοργανισμοί που είναι επιβλαβείς για τους ανθρώπους περιλαμβάνουν βακτήρια, ιούς και πρωτοζωικούς παρασίτους. Με το μικρό τους μέγεθος, τη διακριτή τους κατανομή και τις χαμηλές μολυσματικές δόσεις, οι ιοί θεωρούνται η κύρια πηγή μολυσματικών ασθενειών, σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες (Xiao et al., 2013, Craun et al., 2010, Dziuban et al., 2006). Τα ανθρώπινα και ζωικά απόβλητα περιέχουν συχνά μεγάλους αριθμούς σωματιδίων ιών, τα οποία μπορεί να εισέλθουν σε υδάτινα περιβάλλοντα μέσω εκροών, διηθήσεων από αποχετευτικά συστήματα και απορροών από γεωργικές περιοχές. Περισσότεροι από 150 τύποι εντερικών ιών έχουν βρεθεί σε οικιακά λύματα (Wong et al., 2010), κυρίως περιλαμβάνοντας εντεροϊούς (EVs), ροταϊούς (RVs), αδενοϊούς (AdVs), νοροϊούς (NVs), ιούς της ηπατίτιδας Α (HAV) και αστροϊούς (AVs). Όταν οι άνθρωποι εκτίθενται σε αυτούς τους ιούς μέσω μολυσμένου νερού ή τροφής, διατρέχουν υψηλό κίνδυνο για λοιμώδεις νόσους όπως γαστρεντερίτιδα, ασηπτική μηνιγγίτιδα, πολιομυελίτιδα, μυοκαρδίτιδα, επιπεφυκίτιδα, ηπατίτιδα, αναπνευστικές παθήσεις, συστηματική νεογνική λοίμωξη και σακχαρώδη διαβήτη (WHO 2011, Rajal et al., 2007). Αν και οι επικίνδυνες επιδράσεις των ιών στην ανθρώπινη υγεία έχουν αναγνωριστεί εδώ και πολύ καιρό, και δεν υπάρχει αμφιβολία ότι οι ιοί θα πρέπει να εξαλείφονται από τα οικιακά λύματα πριν απορριφθούν στο περιβάλλον, η ιδανική και πιο αποτελεσματική προσέγγιση για τον έλεγχο του κινδύνου μόλυνσης από ιούς σε αποδεκτό επίπεδο παραμένει μια πρόκληση για πολλούς περιβαλλοντικούς μηχανικούς. Αυτό συμβαίνει επειδή σχεδόν όλες οι κατευθυντήριες γραμμές και τα πρότυπα που σχετίζονται με τη μικροβιολογική ποιότητα του νερού ασχολούνται μόνο με βακτηριολογικούς δείκτες, όπως τα συνολικά κολοβακτηρίδια, τα κολοβακτηρίδια κοπράνων, και το *Escherichia coli*. Στην πραγματικότητα, μπορεί να μην υπάρχουν πάντα σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των δεικτών βακτηρίων και των ιών στα αστικά επιφανειακά ύδατα και στις δευτερεύοντες εκροές (Zhang et al., 2007). Επιπλέον, τα παθογόνα βακτήρια σε έναν συγκεκριμένο όγκο δείγματος νερού μπορεί να μην υποδεικνύουν πραγματικά μια ασφαλή κατάσταση όσον αφορά τους ιούς. Επομένως, χρειάζεται να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στη χαρακτηριστική συμπεριφορά των ιών στο νερό, συμπεριλαμβανομένης της εμφάνισης, της επιβίωσης, της αποσύνθεσης και της απομάκρυνσης/αδρανοποίησης σε όλη τη διαδικασία επεξεργασίας των οικιακών λυμάτων.

1.1 ΚΥΡΙΕΣ ΠΗΓΕΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ

Τα τελευταία χρόνια, έχει παρατηρηθεί μια τεράστια αύξηση στη ζήτηση για γλυκό νερό λόγω της ταχείας αύξησης του πληθυσμού και του επιταχυνόμενου ρυθμού εκβιομηχάνισης (Ramakrishnaiah et al., 2009). Η ανθρώπινη υγεία απειλείται από τις περισσότερες δραστηριότητες αγροτικής ανάπτυξης, ιδιαίτερα σε σχέση με την

υπερβολική εφαρμογή λιπασμάτων και τις ανθυγιεινές συνθήκες (Okeke and Igboanua, 2003). Ανθρωπογενείς δραστηριότητες που σχετίζονται με εκτενή αστικοποίηση, γεωργικές πρακτικές, βιομηχανοποίηση και πληθυσμιακή επέκταση έχουν οδηγήσει σε επιδείνωση της ποιότητας του νερού σε πολλές περιοχές του κόσμου (Baig et al., 2009). Επιπλέον, οι ανεπαρκείς υδάτινοι πόροι έχουν περιορίσει ολοένα και περισσότερο τον έλεγχο της ρύπανσης του νερού και τη βελτίωση της ποιότητας του νερού (Bu et al., 2010). Η ρύπανση του νερού έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας για τους επιστήμονες. Επομένως, η προστασία της ποιότητας του νερού των υδάτινων οικοσυστημάτων είναι εξαιρετικά επείγουσα λόγω της σοβαρής ρύπανσης του νερού και της παγκόσμιας έλλειψης υδάτινων πόρων.

Η ρύπανση του νερού μπορεί να προέλθει από δύο πηγές: 1. Σημειακή πηγή και 2. Μη σημειακή πηγή (Πίνακας 1). Οι σημειακές πηγές ρύπανσης είναι αυτές που έχουν άμεση και αναγνωρίσιμη πηγή. Παραδείγματα περιλαμβάνουν σωλήνα που είναι συνδεδεμένος με εργοστάσιο, διαρροή πετρελαίου από πλοίο μεταφοράς και εκροές που προέρχονται από βιομηχανίες. Οι σημειακές πηγές ρύπανσης περιλαμβάνουν εκροές λυμάτων (τόσο δημοτικών όσο και βιομηχανικών) και εκροές από αποχετευτικά συστήματα καταιγίδας και επηρεάζουν κυρίως την περιοχή κοντά σε αυτές.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά σημειακών και μη σημειακών πηγών, χημικών εισροών στα ύδατα υποδοχής (adapted from Carpenter et al., 1998).

ΣΗΜΕΙΑΚΕΣ ΠΗΓΕΣ	ΜΗ ΣΗΜΕΙΑΚΕΣ ΠΗΓΕΣ
Λύματα (αστικά και βιομηχανική)	Απορροή από τη γεωργία (συμπεριλαμβανομένης της επιστροφής) ροή από αρδευόμενη γεωργία)
Απορροή και στραγγίσματα από χώρους διάθεσης	Απορροή από βοσκότοπους και βοσκότοπους
Απορροή και διείσδυση από ζωοτροφές	Αστικές απορροές, μη αποχετευτικές και αποχετευτικές περιοχές με πληθυσμό <100.000
Απορροή από ορυχεία, πετρελαιοπηγές, μη υπονόμους	Στραγγίσματα σηπτικών δεξαμενών και απορροή από αποτυχημένα σηπτικά συστήματα
Βιομηχανικοί χώροι	Απορροή από εργοτάξια
Εκβολές υπονόμων καταιγίδας από πόλεις με πληθυσμός >100,000	Απορροή από εγκαταλελειμμένα ορυχεία
Υπερχειλίσσεις συνδυασμένης καταιγίδας	Ατμοσφαιρική εναπόθεση πάνω από την επιφάνεια
Απορροή από εργοτάξια >2 εκτάρια	Χερσαίες δραστηριότητες που παράγουν ρύπους, όπως υλοτομία, μετατροπή υγροτόπων, κατασκευή και ανάπτυξη γης ή οδούς

Αντίθετα, οι μη σημειακές πηγές ρύπανσης (Πίνακας 1) είναι αυτές που προέρχονται από διάφορες πηγές προέλευσης και με πολλούς τρόπους με τους οποίους οι ρύποι

εισέρχονται στα υπόγεια ή επιφανειακά ύδατα και φτάνουν στο περιβάλλον από διάφορες μη αναγνωρίσιμες πηγές. Παραδείγματα είναι η απορροή από γεωργικά χωράφια, τα αστικά απόβλητα κ.λπ. Μερικές φορές, η ρύπανση που εισέρχεται στο περιβάλλον σε ένα σημείο έχει επίδραση εκατοντάδες ή ακόμη και χιλιάδες μίλια μακριά. Αυτό είναι γνωστό ως διασυννοριακή ρύπανση. Ένα παράδειγμα είναι τα ραδιενεργά απόβλητα που ταξιδεύουν μέσω των ωκεανών από εργοστάσια ανακύκλωσης πυρηνικών αποβλήτων σε γειτονικές χώρες. Οι ρυπαντές του νερού μπορεί να είναι i) οργανικοί και ii) ανόργανοι ρυπαντές του νερού (Silva, 2023).

i) Οργανικοί ρύποι νερού: Περιλαμβάνουν εντομοκτόνα και ζιζανιοκτόνα, οργανικά χλωρίδια και άλλες μορφές χημικών ουσιών, βακτήρια από λύματα και εκτροφή ζώων, απορρίμματα επεξεργασίας τροφίμων, παθογόνα, πτητικές οργανικές ενώσεις κ.λπ.

ii) Ανόργανοι ρύποι νερού: Μπορεί να προέρχονται από βαρέα μέταλλα από όξινες απορροές μεταλλείων, ιλύς από επιφανειακή απορροή, υλοτομία, πρακτικές καύσης και απόρριψης λιπάσματα από αγροτική απορροή που περιλαμβάνουν νιτρικά και φωσφορικά κ.λπ. και χημικά απόβλητα από βιομηχανικές εκροές.

Πιο αναλυτικά σχετικά με τα λύματα, προέρχονται από διάφορες πηγές, καθεμία από τις οποίες προσφέρει μοναδικά χαρακτηριστικά και ρύπους. Μια ολοκληρωμένη κατανόηση αυτών των πηγών είναι επιτακτική για την αποτελεσματική διαχείριση των λυμάτων. Οι οικιακές πηγές, όπως τα νοικοκυριά και οι εμπορικές εγκαταστάσεις, παράγουν λύματα γεμάτα με οργανική ύλη, θρεπτικά συστατικά και παθογόνους μικροοργανισμούς. Οι βιομηχανικές δραστηριότητες συμβάλλουν με βιομηχανικά λύματα που περιέχουν βαρέα μέταλλα, τοξικές χημικές ουσίες και αιωρούμενα στερεά. Αγροτικές πρακτικές παράγουν γεωργικά λύματα, πλούσια σε θρεπτικά συστατικά, φυτοφάρμακα και ιζήματα. Η απορροή όμβριων υδάτων, που προέρχεται από αστικές και βιομηχανικές περιοχές, μεταφέρει ρυπαντές όπως ιζήματα, λάδι, λίπος και βακτήρια. Τα συνδυασμένα συστήματα αποχέτευσης επιδεινώνουν τα προβλήματα των λυμάτων σε παλαιότερες αστικές περιοχές, οδηγώντας σε υπερχειλίσεις συνδυασμένων αποχετεύσεων κατά τη διάρκεια έντονων βροχοπτώσεων. Η αναγνώριση των προελεύσεων και των συστατικών των λυμάτων βοηθά στην προσαρμογή κατάλληλων λύσεων. στρατηγικές επεξεργασίας και διάθεσης για την μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης και την προστασία της δημόσιας υγείας (Silva, 2023). Οι κύριες πηγές λυμάτων περιλαμβάνουν:

- Εγχώριες Πηγές: Τα εγχώρια λύματα, που συνήθως αναφέρονται ως αποχέτευση προέρχονται από οικιακά νοικοκυριά, εμπορικές εγκαταστάσεις και θεσμικά κτίρια. Περιλαμβάνουν λύματα από διάφορες πηγές όπως τουαλέτες, νιπτήρες, ντους, πλυντήρια και δραστηριότητες στην κουζίνα. Αυτά τα λύματα περιέχουν ένα μείγμα οργανικής ύλης, θρεπτικών συστατικών όπως άζωτο και φώσφορο, παθογόνους μικροοργανισμούς όπως βακτήρια και ιούς, καθώς και οικιακά χημικά. Στις αστικές περιοχές, όπως φαίνεται και στην (Εικόνα 1) τα οικιακά λύματα αποτελούν ένα σημαντικό ποσοστό της

συνολικής παραγωγής λυμάτων λόγω των πυκνών πληθυσμών και των υψηλών ποσοστών κατανάλωσης νερού (Koul et al., 2022).



Εικόνα 1. Τα μεγάλα αστικά κέντρα προκαλούν μόλυνση των υδάτων (Πηγή: e-synews.gr 2021 <https://www.e-synews.gr/2021/01/27/ta-megala-astika-kentra-prokaloy-n-molynsi-ton-ydaton/>)

- **Βιομηχανικές πηγές:** Τα βιομηχανικά λύματα προέρχονται από διαδικασίες παραγωγής, βιομηχανικές δραστηριότητες και εμπορικές επιχειρήσεις, περιλαμβάνοντας εκροές από εργοστάσια, διυλιστήρια, σταθμούς παραγωγής ενέργειας και χημικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας. Αυτά τα λύματα μπορούν να περιέχουν διάφορους ρύπους που είναι συγκεκριμένοι για κάθε βιομηχανία, συμπεριλαμβανομένων βαρέων μετάλλων, τοξικών χημικών ουσιών, οργανικών διαλυτών και αιωρούμενων στερεών. Δεδομένης της σύνθετης φύσης τους, η επεξεργασία των βιομηχανικών λυμάτων συχνά απαιτεί εξειδικευμένες διαδικασίες προσαρμοσμένες για να αφαιρέσουν ή να εξουδετερώσουν αποτελεσματικά αυτούς τους ρύπους (Aziz et al., 2023).
- **Γεωργικές πηγές:** Τα γεωργικά λύματα προέρχονται από γεωργικές δραστηριότητες όπως η άρδευση, οι κτηνοτροφικές εργασίες και η επεξεργασία καλλιεργειών. Περιλαμβάνουν απορροές από χωράφια που έχουν υποστεί επεξεργασία με λιπάσματα και φυτοφάρμακα, καθώς και απόβλητα ζώων από φάρμες και εκτροφές. Αυτά τα λύματα συχνά περιέχουν αυξημένα επίπεδα θρεπτικών συστατικών, φυτοφαρμάκων, παθογόνων και ιζημάτων (Mathew et al., 2024b).
- **Καταιγίδα υδάτων:** Η καταιγίδα υδάτων είναι η ροή της βροχόπτωσης πάνω από αδιαπέραστες επιφάνειες όπως δρόμοι, χώρους στάθμευσης και στέγες,

συλλέγοντας ρύπους πριν εισέλθουν σε υδάτινα σώματα ή δημοτικά συστήματα αποχέτευσης. Αυτή η ροή μπορεί να περιέχει ιζήματα, λάδι, λίπος, βαρέα μέταλλα και βακτήρια, που συγκεντρώνονται από αστικές και βιομηχανικές περιοχές (Godyń et al., 2022).

- **Συνδυασμένες εκροές ακαθαρσιών (CSOs):** Τα συνδυασμένα συστήματα αποχέτευσης, που είναι διαδεδομένα σε παλαιότερες αστικές περιοχές, διαχειρίζονται τα λύματα και την απορροή όμβριων υδάτων μαζί. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια έντονων βροχοπτώσεων ή λιωσίματος χιονιού, η χωρητικότητα του συστήματος αποχέτευσης υπερβαίνεται, προκαλώντας συνδυασμένες εκροές ακαθαρσιών (CSOs). Αυτά τα γεγονότα οδηγούν στην εκροή μη επεξεργασμένων λυμάτων, που περιλαμβάνουν λύματα και όμβρια ύδατα, απευθείας σε υδάτινα σώματα. Οι CSOs αποτελούν σημαντικούς περιβαλλοντικούς και δημόσιους κινδύνους υγείας, μολύνοντας τα υδάτινα ρεύματα με παθογόνους μικροοργανισμούς, ρύπους και απορρίμματα. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ασθένειες που μεταδίδονται μέσω του νερού, οικολογική υποβάθμιση και βλάβη στους υδάτινους βιότοπους (Muttill et al., 2023).
- **Εμπορικές και ιδρυματικές πηγές:** Εμπορικές εγκαταστάσεις, όπως εστιατόρια, ξενοδοχεία και εμπορικά κέντρα, καθώς και ιδρυματικές εγκαταστάσεις, όπως σχολεία, νοσοκομεία και φυλακές, παράγουν απόβλητα από τις λειτουργίες και τις δραστηριότητές τους. Αυτά τα απόβλητα μπορεί να περιέχουν παρόμοιους ρύπους με τα οικιακά απόβλητα, αλλά μπορεί επίσης να περιλαμβάνουν επιπλέον ρυπαντές που σχετίζονται με εμπορικές και ιδρυματικές δραστηριότητες, όπως απορρίμματα τροφίμων, χημικά καθαρισμού και φαρμακευτικά προϊόντα (Inobeme et al., 2023b).

1.1.1 ΟΙΚΙΑΚΑ ΛΥΜΑΤΑ

Τα λύματα προέρχονται από διάφορες πηγές, περιλαμβάνοντας τους οικιακούς, βιομηχανικούς και αγροτικούς τομείς. Οικιακά λύματα, που συνήθως αναφέρονται ως αποχέτευση, προέρχονται από οικιστικά νοικοκυριά, εμπορικές εγκαταστάσεις και θεσμικά κτίρια. Περιλαμβάνουν λύματα από διάφορες πηγές όπως τουαλέτες, νιπτήρες, ντους, πλυντήρια και δραστηριότητες στην κουζίνα. Αυτά τα λύματα περιέχουν ένα μείγμα οργανικής ύλης, θρεπτικών συστατικών όπως άζωτο και φώσφορο, παθογόνους μικροοργανισμούς όπως βακτήρια και ιούς, καθώς και οικιακά χημικά. Σε αστικές περιοχές, τα οικιακά λύματα αποτελούν ένα σημαντικό ποσοστό της συνολικής παραγωγής λυμάτων λόγω της πυκνότητας του πληθυσμού και των υψηλών ποσοστών κατανάλωσης νερού. Η διαχείριση των οικιακών λυμάτων είναι

απαραίτητη για την πρόληψη μόλυνσης των υδάτινων σωμάτων, μείωση των κινδύνων για τη δημόσια υγεία και εξασφάλιση της σωστής επεξεργασίας και διάθεσης των λυμάτων για την προστασία τόσο της ανθρώπινης υγείας όσο και του περιβάλλοντος (Koul et al., 2022). Τα βιομηχανικά λύματα, όπως φαίνεται και στην (Εικόνα 2), προέρχονται από εργοστάσια παραγωγής, εξορυκτικές δραστηριότητες, και άλλες βιομηχανικές διαδικασίες, συχνά περιέχει αυξημένες συγκεντρώσεις συγκεκριμένων ρύπων, όπως βαρέα μέταλλα, οργανικές χημικές ουσίες και επικίνδυνες ουσίες. Επιπλέον, η γεωργική απορροή, που περιλαμβάνει την απορροή από την άρδευση και τα απόβλητα ζώων εισάγουν θρεπτικά συστατικά, φυτοφάρμακα και ιζήματα σε υδάτινους όγκους (Koul et al., 2022).



Εικόνα 2. Μολυσμένο νερό με πλαστικά απόβλητα (Πηγή: Pixabay-Water Pollution Images)

Η σύνθεση των λυμάτων παρουσιάζει μεταβλητότητα ανάλογα με την πηγή τους, την γεωγραφική τοποθεσία και τις επικρατούσες πρακτικές χρήσης γης. Οι αστικές περιοχές συνήθως παράγουν λύματα με αυξημένο οργανικό και θρεπτικό περιεχόμενο λόγω των συγκεντρωμένων ανθρώπινων δραστηριοτήτων, ενώ οι βιομηχανικές περιοχές μπορεί να παράγουν λύματα επιβαρυνμένα με ρύπους συγκεκριμένων βιομηχανιών. Μια εις βάθος κατανόηση των χαρακτηριστικών των λυμάτων είναι επιτακτική για την κατάρτιση προσαρμοσμένων στρατηγικών επεξεργασίας και την επιλογή κατάλληλων μεθόδων διάθεσης (Koul et al., 2022).

Τα γκρίζα νερά ορίζονται ως οικιακά απόβλητα που δεν έχουν μολυνθεί από άμεση επαφή με ανθρώπινα απόβλητα. Είναι ένας γενικός όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει την εκροή αποβλήτων, εξαιρουμένων των οικιακών αποβλήτων (απόβλητα από τουαλέτες), τα οποία θα κατηγοριοποιούνταν ως μαύρα νερά. Πηγές γκρίζων νερών περιλαμβάνουν τους νεροχύτες της κουζίνας, τις ντουζιέρες, τις μπανιέρες, τις πλυντήρια ρούχων και τα πλυντήρια πιάτων, καθώς και τα απόβλητα

από πλυντήρια αυτοκινήτων (Dixon et al., 1999,). Ορισμένοι συγγραφείς εξαιρούν τα απόβλητα που προέρχονται από τους νεροχύτες της κουζίνας λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λάδι και σωματίδια τροφίμων, ενώ άλλοι συγγραφείς εξαιρούν το νερό από πλυντήρια αυτοκινήτων λόγω του λαδιού και των επιβλαβών χημικών ουσιών (Al Jayyousi, 2003). Το λευκό νερό (πόσιμο νερό) γίνεται γκρι λόγω των αποβλήτων (Brown, 2002). Η βιολογική ζήτηση οξυγόνου (BOD), η χημική ζήτηση οξυγόνου (COD), τα συνολικά αιωρούμενα στερεά (TSS), οι επιφανειοδραστικές ουσίες, το λάδι και το λίπος, τα υπολείμματα απορρυπαντικών (άζωτο, φώσφορος, θειικό, αμμώνιο, νάτριο και χλώριο) είναι συνήθως ζητήματα ανησυχίας κατά την επεξεργασία οικιακών ρευμάτων γκριζου νερού. Από την άλλη πλευρά, το λάδι, το λίπος, τα μέταλλα (κομμάτια βαφής), οι φωσφορικές ενώσεις, τα απορρυπαντικά και άλλες χημικές ουσίες είναι σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στο γκριζο νερό πλυντηρίου αυτοκινήτων σε σύγκριση με το οικιακό γκριζο νερό της χρήσης και της εισαγωγής υπολειμμάτων διαδικασίας καθαρισμού. Αυτά τα απόβλητα νερού κατηγοριοποιούνται ως ελαφρύ γκριζο νερό ή σκούρο γκριζο νερό. Το σκούρο γκριζο νερό μπορεί να περιέχει υψηλά επίπεδα λαδιού και λίπους. Από την άλλη πλευρά, τα ανθρώπινα απόβλητα και τα υψηλά υπολείμματα τροφίμων παράγουν μαύρο νερό ή λύματα. Επιπλέον, οι ροές αποβλήτων από εμπορικές και γραφειακές εγκαταστάσεις μπορούν επίσης να διαχωριστούν ως ροές γκριζου νερού, όπως συμβαίνει με τους σταθμούς πλυσίματος οχημάτων (Fall et al., 2007). Η πλειονότητα των οικιακών αποβλήτων παράγει μία εκροή πλούσια σε διαλυμένους ρύπους και φτωχή σε θολότητα και αιωρούμενα στερεά.

1.2 Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΟΛΥΣΜΕΝΩΝ ΥΔΑΤΩΝ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ

Η χρήση μολυσμένου πόσιμου νερού, η κακή αποχέτευση και η μη σωστή υγιεινή των χεριών συμβάλλουν στους ετήσιους θανάτους σχεδόν 829.000 ανθρώπων από διάρροια, σύμφωνα με την Έκθεση Παγκόσμιας Ανάπτυξης Νερού της UNESCO το 2021. Το μολυσμένο νερό έχει σοβαρές αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και είναι αξιοσημείωτο ότι περιλαμβάνονται πάνω από 300.000 παιδιά κάτω των πέντε ετών, που αντιπροσωπεύουν το 5,3% όλων των θανάτων σε αυτή την ηλικιακή ομάδα.

Η απουσία υπηρεσιών νερού και αποχέτευσης ενισχύει επίσης την επικράτηση ασθενειών όπως η χολέρα, το τράχωμα, η σχιστοσωμίαση και η ελμινθίαση. Το ρυπασμένο νερό θέτει αρκετούς κινδύνους για την υγεία, συμπεριλαμβανομένων των αναπνευστικών παθήσεων, του καρκίνου, των διαρροϊκών παθήσεων, της νευρολογικής δυσλειτουργίας και των καρδιαγγειακών παθήσεων (Ullah et al., 2014). Επιπλέον, οι υπερβολικές βροχοπτώσεις και οι πλημμύρες οδηγούν σε σοβαρές κλιματικές συνθήκες, καθώς και στην εμφάνιση πολλών ασθενειών τόσο σε ανεπτυγμένες όσο και σε αναπτυσσόμενες χώρες (Ahmad et al., 2014). Αποδείξεις από έρευνες που διεξήχθησαν σε φτωχές χώρες δείχνουν μια σαφή συσχέτιση μεταξύ της χολέρας και του ρυπασμένου νερού (Gundry et al., 2004).

Πάνω από πενήντα σοβαρές ασθένειες μπορεί να προκληθούν από μολυσμένο νερό, συμπεριλαμβανομένων μολυσματικών ασθενειών, δερματικών παθήσεων, πεπτικών διαταραχών, αναπνευστικών ασθενειών και καρκίνου (Wen et al., 2020). Η ασφάλεια του πόσιμου νερού αποτελεί σημαντική απειλή για τη δημόσια υγεία. Οι πηγές πόσιμου νερού περισσότερων από δύο δισεκατομμυρίων ανθρώπων ήταν μολυσμένες με απόβλητα, και 829.000 άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως από διάρροια που προκαλείται από ανθυγιεινό πόσιμο νερό, έλλειψη αποχέτευσης και κακή υγιεινή χειρών (WHO 2022). Νοσοκομεία, βιομηχανίες, σταθμοί απολύμανσης, εκροές εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων και ομβροδεξαμενές θεωρούνται οι πιο κοινές πηγές ρύπανσης από φυσικό νερό. Οι περισσότερες μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι οι ασθένειες γαστρεντερίτιδας εμφανίζονται σε υψηλότερους ρυθμούς από άλλες ασθένειες (EPA 2012). Οι εντερικοί ιοί και τα εντερικά βακτήρια έχουν αποτελέσει τις κύριες αιτίες των ασθενειών γαστρεντερίτιδας που μεταδίδονται μέσω του νερού (Said et al., 2003). Λόγω των δυσκολιών στη μεθοδολογία, της καταμέτρησης των παθογόνων (ιών, βακτηρίων, παρασίτων) και της χαμηλής δόσης μολυσματικότητας που απαιτείται για να προκληθεί η λοίμωξη, οι περιβαλλοντικές και υγειονομικές αρχές αξιοποιούν μικροβιοδείκτες για την εκτίμηση της ποιότητας του νερού και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της επεξεργασίας. (Bartram et al., 2001). Στην (Εικόνα 3) απεικονίζεται ένα μολυσμένο ποτάμι από οικιακά και βιομηχανικά λύματα, τα οποία προέρχονται από εργοστάσια και πόλεις και στην (Εικόνα 4) φαίνονται μερικά παιδιά που συλλέγουν νερό από μολυσμένη πηγή και αυτός είναι ένας λόγος που μεταδίδονται ασθένειες σε διάφορες χώρες, οι οποίες δεν έχουν πρόσβαση σε καθαρή πηγή.



**Εικόνα 3. Μολυσμένο ποτάμι από οικιακά και βιομηχανικά απόβλητα
(Πηγή:Shutterstock/Getty Image μέσω Bing Image Search)**



Εικόνα 4. Παιδιά που συλλέγουν νερό από μολυσμένη πηγή (Πηγή:Κατιούσα.gr-Παγκόσμια Ημέρα Νερού 2023 <https://www.katioussa.gr/koinonia/perivallon/mia-eikona-chilies-lekseis-aformi-tin-pagkosmia-imera-nerou>)

Πολλές ομάδες εντερικών ιών, εντερικών βακτηρίων και πρωτόζωων μεταφέρονται μέσω του νερού (Liste et al., 2000). Περίπου 150 διάφοροι ορολογικοί τύποι ιών, συμπεριλαμβανομένων των αδενοϊών (AVs), νοροϊών (NoVs), ροταϊών (RVs), εντεροϊών (EVs) και πολυοϊών (PVs), προκαλούν μια ποικιλία ασθενειών (Hamza et al., 2009). Οι εντερικοί ιοί αναπαράγονται στο εντερικό σύστημα ανθρώπων και ζώων· μπορούν να αντέξουν το όξινο pH του εντέρου, την αλκαλική δραστηριότητα και τη πρωτεολυτική δραστηριότητα του δωδεκαδακτύλου (Greening and Cannon, 2016). Επιπλέον, οι εντερικοί ιοί έχουν υψηλή αντοχή σε περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, φως, αλμυρότητα), καθώς και σε διαδικασίες επεξεργασίας νερού και λυμάτων (Gibson, 2014). Η κοπρανο-στοματική οδός είναι ο κύριος τρόπος μετάδοσης των εντερικών ιών μέσω μολυσμένων τροφίμων ή νερού, επιπλέον, μέσω της άμεσης επαφής με μολυσμένα άτομα (Koormans and Duizer, 2004). Πολλές ασθένειες επίσης προκαλούνται, όπως η επιπεφυκίτιδα, οι αναπνευστικές λοιμώξεις, η μη βακτηριακή γαστρεντερίτιδα και η ηπατίτιδα (Lenaerts et al., 2008).

1.2.1 ΥΓΕΙΑ ΤΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ

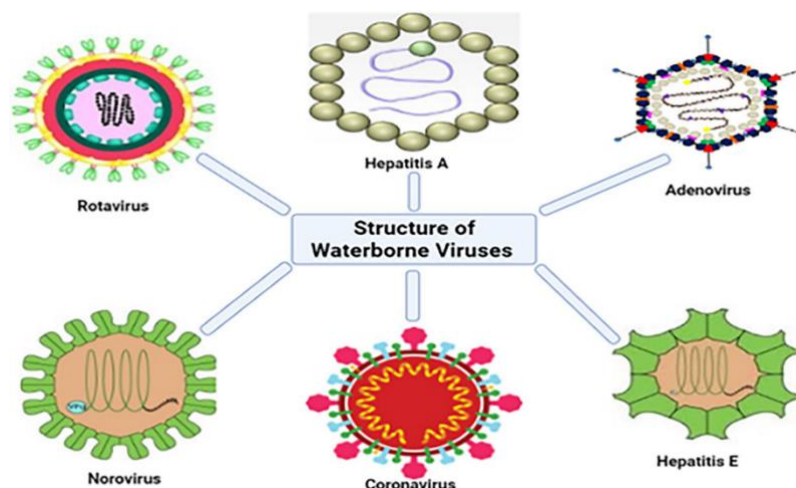
Η μόλυνση των υδάτων συμβάλλει σημαντικά στον επιπολασμό παιδιατρικών ασθενειών. Το 2016 οι σωρευτικές συνέπειες της παγκόσμιας θνησιμότητας παιδιών λόγω ρύπανσης του εδάφους, των υδάτων και του αέρα ανήλθαν σε 940.000. Παιδιά κάτω των πέντε ετών αποτελούσαν περίπου τα δύο τρίτα αυτών των θανάτων, και η πλειοψηφία συνέβη σε έθνη με χαμηλά έως μέτρια εισοδήματα (Landrigan et al., 2019). Η βιομηχανική ρύπανση των υδάτων έχει σημαντικό ρόλο στην πρόκληση του θανάτου των βρεφών και των παιδιών στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες (Jorgenson, 2009).

Η διάρροια είναι μια κοινή ασθένεια στα παιδιά. Οι διαρροϊκές ασθένειες (συμπεριλαμβανομένης της χολέρας) σκοτώνουν 1,8 εκατομμύρια ανθρώπους κάθε χρόνο, το 90% από αυτούς είναι παιδιά κάτω των πέντε ετών, κυρίως σε αναπτυσσόμενες χώρες. Το 88% των διαρροϊκών ασθενειών προκαλείται από ανεπαρκή παροχή νερού, αποχέτευση και υγιεινή (Team, 2004). Ένα μεγάλο ποσοστό αυτών προκαλείται από έκθεση σε μικροβιακά μολυσμένο νερό και τροφή, και η διάρροια σε βρέφη και μικρά παιδιά μπορεί να οδηγήσει σε κακή διατροφή και μειωμένη ανοσολογική αντίσταση, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα παρατεταμένης και επαναλαμβανόμενης διάρροιας (Marino, 2007). Η έκθεση σε ρύπανση που βιώνουν τα παιδιά κατά τη διάρκεια κρίσιμων περιόδων ανάπτυξης σχετίζεται με απώλεια ύψους στην ενήλικη ζωή (Zaveri et al., 2020). Ασθένειες που σχετίζονται άμεσα με το νερό και την αποχέτευση, σε συνδυασμό με την κακή διατροφή, οδηγούν επίσης σε άλλες αιτίες θανάτου, όπως η ιλαρά και η πνευμονία. Η κακή διατροφή και η καθυστέρηση ανάπτυξης στα παιδιά λόγω ανεπαρκούς νερού και αποχέτευσης θα συνεχίσουν να επηρεάζουν περισσότερα από το ένα τρίτο των παιδιών στον κόσμο (Bartlett, 2003). Μια μελέτη από την αγροτική Ινδία έδειξε ότι τα παιδιά που ζουν σε νοικοκυριά με πόσιμο νερό είχαν σημαντικά χαμηλότερη επικράτηση και διάρκεια ασθενειών (Jalan and Ravallion, 2003).

Συμπερασματικά, η ρύπανση του νερού είναι μια σημαντική αιτία παιδικών ασθενειών και η συντριπτική πλειοψηφία συνέβη σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος (Landrigan et al., 2018). Η ένταση της βιομηχανικής ρύπανσης του νερού είναι θετικά συσχετισμένη με τη βρεφική και παιδική θνησιμότητα σε λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες, και η βιομηχανική ρύπανση του νερού είναι μια σημαντική αιτία βρεφικής και παιδικής θνησιμότητας σε αυτές τις χώρες (Jorgenson, 2009).

1.2.2 ΠΟΣΟΣΤΑ ΚΑΙ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΕΠΙΔΗΜΙΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΚΑΤΑΓΡΑΦΕΙ ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ

Παγκοσμίως, περισσότεροι από 150 εντερικοί ιοί σχετίζονται με υδατογενείς ασθένειες. Ο επιπολασμός του ιού της ηπατίτιδας Α (HAV), του αδενοϊού (AdV), των ροταϊών (RV), των εντεροϊών (EVs), των αστροϊών (AstVs), των νοροϊών (NoVs) και των βακτηριοφάγων, στα επιφανειακά ύδατα (Radin, 2014), στα φράγματα και στο επεξεργασμένο πόσιμο νερό (Fernandez-Cassi et al., 2018, Opere, 2019). Η εικόνα 5 απεικονίζει τόσο τους ιούς με περίβλημα (π.χ. κοροναϊούς) όσο και τους ιούς χωρίς περίβλημα που βρίσκονται σε επεξεργασμένα και μη επεξεργασμένα λύματα (Ahmed et al., 2020). Επιπλέον, όλοι οι ιοί που αναφέρθηκαν παραπάνω μπορούν και μεταδίδονται μέσω του νερού (Gibson, 2014, Bous et al., 2020).



Εικόνα 5. Δομές ορισμένων από τους ιούς που έχουν ανιχνευθεί σε πηγές νερού (Πηγή: Altintas et al., 2015)

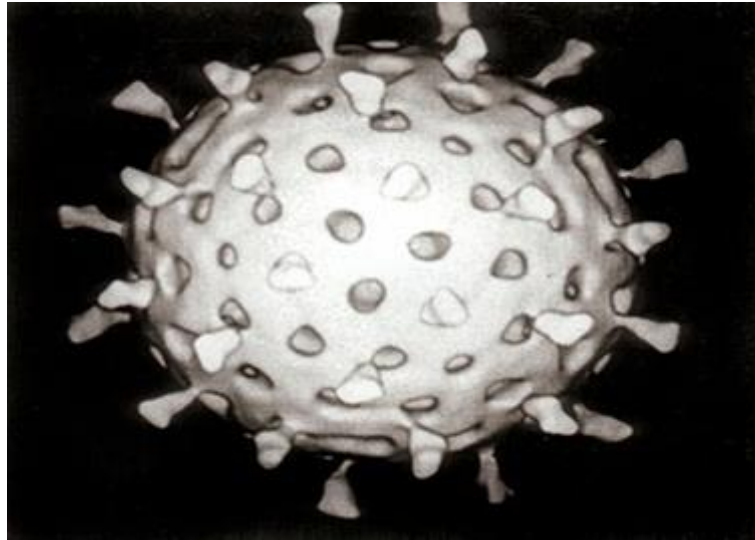
https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.981896/full?utm_source

Ροταϊός (RV): Σε παγκόσμιο επίπεδο, ο ροταϊός (Εικόνα 6) ήταν ο κυριότερος παθογόνος οργανισμός που προκαλούσε θανάτους από διάρροια μεταξύ των 13 παθογόνων που περιλαμβάνονται στην GBD 2019 (Παγκόσμια Μελέτη Επιπτώσεων Υγείας), αντιπροσωπεύοντας το 19,11% των θανάτων από διάρροια το 2019, που αντιστοιχεί σε 235.331 θανάτους. Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες, ο αριθμός των θανάτων λόγω λοίμωξης από ροταϊό μειώθηκε από 659.053 το 1990 σε 235.331 το 2019. Οι ροταϊοί είναι ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά κάτω των πέντε ετών, με 258 εκατομμύρια περιπτώσεις διάρροιας (Crawford et al., 2017). Υπάρχουν 111 εκατομμύρια περιπτώσεις διάρροιας και περίπου 2 εκατομμύρια παιδιά που νοσηλεύονται κατά τη διάρκεια του έτους (Wang et al., 2016, Badur et al., 2019). Είναι οι πιο ανιχνεύσιμοι RNA εντερικοί ιοί σε ποτάμια και ακατέργαστα λύματα και οι πιο ανθεκτικοί RNA εντερικοί ιοί στις διαδικασίες επεξεργασίας σε εργοστάσια επεξεργασίας νερού και λυμάτων (Kukkula et al., 1999). Η μετάδοση του ιού RV ακολουθεί την κοπρανοστοματική οδό. Η εξάπλωση κοπράνων-ανθρώπων διευκολύνεται κυρίως από περιβαλλοντικές δεξαμενές όπως υγρά, τρόφιμα, δάχτυλα

και μικροοργανισμοί μέσω αλληλεπιδράσεων ανθρώπων ή ζώων με το περιβάλλον τους (Julian et al., 2016).

Η μόλυνση των τροφίμων συμβαίνει συνήθως όταν μολυσμένο νερό ή αναποτελεσματικά επεξεργασμένη ιλύς λυμάτων και λύματα χρησιμοποιούνται για άρδευση καλλιεργειών ή οι χειριστές τροφίμων αποτυγχάνουν να εξασφαλίσουν την κατάλληλη υγιεινή των χεριών (Julian et al., 2016, Gallimore et al., 2005). Οι Quiroz-Santiago et al. 2014 ανίχνευσαν ροταϊό (RV) σε στρείδια και ανέφεραν επίσης την εμφάνισή του στο 21,2% (7/33) δειγμάτων λαχανικών που περιλάμβαναν σέλινο, κόλιανδρο, σπανάκι, μαρούλι romaine, παπαλογκίτη και μαϊντανό, τα οποία μεταφέρθηκαν σε μεξικανική αγορά. Ομοίως, ο ροταϊός (RV) ανιχνεύθηκε σε μερικούς επεξεργασμένα νερά (11,8%), νερό άρδευσης (14%) και τα αντίστοιχα δείγματα ακατέργαστων λαχανικών (1,7%) στη Νότια Αφρική (van Zyl et al., 2006).

Η μετάδοση του ροταϊού (RVA) μέσω λυμάτων ή μολυσμένων ποταμών αυξάνεται στις αναπτυσσόμενες χώρες λόγω της υψηλής αύξησης του πληθυσμού και των κακών συνθηκών υγιεινής (Omatola and Olaniran 2022). Η εμφάνιση του ροταϊού (RV) σε επεξεργασμένο πόσιμο νερό αποτελεί επίσης πρόκληση (van Zyl et al., 2006). Η ικανότητα να παραμένει για μέρες σε υδάτινα περιβάλλοντα και να είναι μολυσματικός διευκολύνει την υδατογενή εξάπλωση, η οποία έχει οδηγήσει σε αρκετές εστίες γαστρεντερίτιδας με ένα ευρύ φάσμα συμπτωμάτων (WHO, 2018). Το πόσιμο νερό έχει θεωρηθεί ως η πιο αποτελεσματική οδός έκθεσης για μόλυνση από τον ροταϊό (RV) και ως κοινός πόρος, η μόλυνση από ένα μέλος του νοικοκυριού μπορεί να ενισχύσει τους κινδύνους μετάδοσης σε ένα σπίτι (Julian et al., 2016). Κάθε μέρα, το μέσο παιδί και ο ενήλικας καταναλώνουν περίπου 0,2-0,5 και 0,8-1,2 L νερού, αντίστοιχα (EPA, 2011). Ακόμη και όταν το νερό πηγής θεωρείται ασφαλές, το ίδιο μπορεί να μην ισχύει για το αποθηκευμένο νερό λόγω της πανταχού παρούσας φύσης του ροταϊού (RV). Επίσης, σε μια μελέτη που διεξήχθη για να διερευνήσει τη σχέση μεταξύ της μολυσμένης πηγής νερού και της ροταϊικής λοίμωξης μεταξύ 184 παιδιών κάτω των 5 ετών με οξεία υδαρή διάρροια, η υψηλότερη ροταϊική λοίμωξη παρατηρήθηκε σε παιδιά που καταναλώνουν μολυσμένο νερό λίμνης (94,44%). Ακολούθησαν τα παιδιά που δεν θήλασαν αποκλειστικά (83,87%) και το 64,00% τα παιδιά που ζουν σε περιοχές με χαμηλότερες κοινωνικοοικονομικές συνθήκες (Habib et al., 2021).



Εικόνα 6. Απεικόνιση του ροταϊού (Πηγή:
https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%99%CF%8C%CF%82_%CE%A1%CF%8C%CF%84%CE%B1)

Αδενοϊός (AdV) : Οι αδενοϊοί (AdVs) είναι η κύρια αιτία πολλών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων της επιπεφυκίτιδας, των αναπνευστικών παθήσεων και της γαστρεντερίτιδας (Chitambar et al., 2012). Οι αδενοϊοί είναι οι κύριοι παθογόνοι παράγοντες που σχετίζονται με σοβαρή πνευμονία στην παιδική ηλικία (Jonnalagadda et al., 2017). Σε ολόκληρο τον κόσμο, αυτοί οι ιοί έχουν βρεθεί σε λύματα (Mena and Gerba, 2008). Είναι γενικά ήπιοι και αυτοπεριοριζόμενοι, αλλά σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, μπορούν να εξελιχθούν σε σοβαρές λοιμώξεις με μοναδικές εκδηλώσεις (Khanal et al., 2018). Τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες, η εμφάνιση εντερικών ιών (AdV) στην παιδική διάρροια κυμαίνεται από 1 έως 8% και 2 έως 31%, αντίστοιχα (Meqdam and Thwiny, 2007). Μεταξύ 2007 και 2019, ο αδενοϊός (AdV) βρέθηκε σε περίπου 10,8% όλων των περιστατικών γαστρεντερίτιδας μεταξύ παιδιών κάτω των πέντε ετών στην υποσαχάρια Αφρική (Oppong et al., 2020). Έχει αποδειχθεί ότι οι αδενοϊοί (AdVs) εμφανίζονται συχνά σε πηγές ακατέργαστου νερού, επεξεργασμένα αποθέματα πόσιμου νερού, αστικά ποτάμια και μολυσμένα παράκτια ύδατα και καθ' όλη τη διάρκεια του έτους (Puig et al., 1994) και περίπου το 90% του ανθρώπινου πληθυσμού είναι οροθετικό για έναν ή περισσότερους ορότυπους AdVs (Fong et al., 2010).

Το Navotas Fish Port Complex (Εικ. 7Α) και το Angono Lakeside Eco Park στο Rizal (Εικ. 7Β) είναι δύο από τους πιο δημοφιλείς και σημαντικούς αλιευτικούς προορισμούς που αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος του συνόλου των εμπορικών αλιευμάτων των Φιλιππίνων. Επιπλέον, οι άνθρωποι σε αυτές τις περιοχές έχουν άμεση επαφή με μολυσμένο νερό και διατρέχουν κίνδυνο έκθεσης σε εντερικούς αδενοϊούς (AdVs), οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν γαστρεντερικές λοιμώξεις. Ελήφθησαν δείγματα από αυτές τις τοποθεσίες για την ποιότητα του νερού τους με ανίχνευση αδενοϊού (AdVs). Από τον Μάρτιο έως τον Αύγουστο του 2022, ελήφθησαν συνολικά 203 δείγματα νερού. Για να εξασφαλιστούν αντικειμενικά

αποτελέσματα κατά την εκχύλιση, τα δείγματα νερού επισημάνθηκαν προσεκτικά και συσκευάστηκαν κατάλληλα σε αποστειρωμένες φιάλες και μεταφέρθηκαν πίσω στο εργαστήριο σε πάγο (Lumaque et al., 2015).



Εικόνα 7 Α) σημεία δειγματοληψίας στο Navotas Fish Port και στο Centennial Park (θαλασσινό νερό) και **Β)** σημεία δειγματοληψίας στο Angono Lakeside Eco Park, Angono, Rizal (γλυκά ύδατα) (Πηγή: Lumaque et al., 2015) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22743820>

Μία από τις πηγές αδενοϊού είναι το νερό του ποταμού, το οποίο παραμένει σε όλες τις χώρες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διάφορες λειτουργίες όπως το νερό άρδευσης, το πόσιμο και τα θαλάσσια σπορ που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες. Αδενοϊοί (AdVs) έχουν ανιχνευθεί σε αρκετές περιπτώσεις νερού ποταμών σε όλο τον κόσμο. Ο Πίνακας 1 δείχνει ότι το εύρος των αδενοϊών είναι 5-100%, χρησιμοποιώντας παρόμοιες μεθόδους ανίχνευσης (PCR), παρόλο που το εύρος των ποσοστών παραμένει ιδιαίτερα μεγάλο. Η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών που προέρχονται από ρύπανση κοπράνων μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ποιότητα του νερού. Επί του παρόντος, η μικροβιολογική παρακολούθηση του νερού γίνεται κυρίως με την ανίχνευση ολικών κολοβακτηριδίων και κολοβακτηριδίων κοπράνων. Παρ' όλα αυτά, η έλλειψη αυτών των παθογόνων δεν αποκλείει την υποτιθέμενη μόλυνση κοπράνων με διαφορετικούς ιούς που εκκρίνονται στα κόπρανα τόσο από άρρωστα όσο και από ασυμπτωματικά άτομα (Vecchia et al., 2012) (Εικ. 8).

Πίνακας 2. Η παρουσία αδενοϊού στα νερά των ποταμών (https://repository.si.edu/items/81807b3f-1c66-42f8-9e8c-d594bce44d58?utm_source=chatgpt.com)

Έτος	Χώρα	Μέθοδος συγκέντρωσης	% Αδενοϊός	Συγγραφέας (αριθμός αναφοράς)

2021	Σαουδική Αραβία	Μέθοδος κατακρήμνισης PEG	Μέσος όρος = 72,22%	Nour et al.
2021	Κένυα	Μέθοδος προσρόφησης-έκλωσης υαλοβάμβακα	Εύρος= (52,78-83,33) 5.09% (11/216)	Opere et al.
2019	Ιταλία	Υπερδιήθηση εφαπτομενικής ροής	Μέσος όρος = 76,4% (184/241)	Verani et al.
2018	Κίνα	Μέθοδος προσρόφησης-έκλωσης	67%	Zhu et al.
2018	Γαλλία	Μέθοδος προσρόφησης-έκλωσης υαλοβάμβακα	100% (15/15)	Sedji et al.
2013	Νέα Ζηλανδία	Μέθοδος κατακρήμνισης PEG	85.7% (30/35)	Hewitt et al.
2012	Βραζιλία	Μέθοδος προσρόφησης-έκλωσης	21.43%	Vecchia et al.
2009	Ισπανία	Μέθοδος προσρόφησης-έκλωσης υαλοβάμβακα	83%	Albinana-Gimenez et al.
2005	Αφρική	Μέθοδος προσρόφησης-έκλωσης υαλοβάμβακα-κατακρήμνιση PEG	22.22% (10/45)	van Heerden et al.

2005	Αφρική	Μέθοδος προσρόφησης- έκλουσης υαλοβάμβακα	7.8% (4/51)	van Heerden et al.
2004	Αφρική	Μέθοδος προσρόφησης- έκλουσης υαλοβάμβακα και κατακρήμνιση PEG	44% (22/50)	van Heerden et al.
1994	Σουηδία	Μέθοδος προσρόφησης- έκλουσης	100% (25/25)	Puig et al.



Εικόνα 8. Γεωγραφικός χάρτης των χωρών που μελετούν το νερό του ποταμού που αναφέρεται στις μελέτες (Puig, Jofre, Lucena, Allard, Wadell, Girones, 1994)

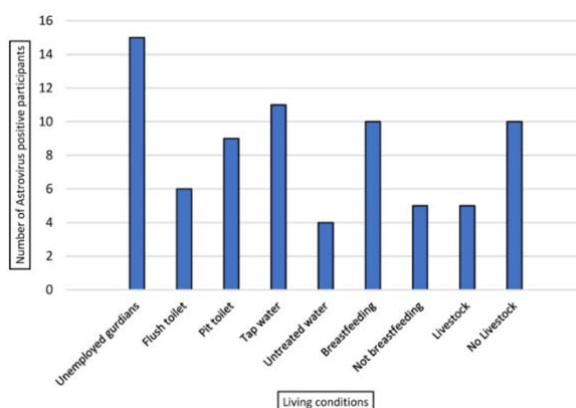
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11133282/>

Ο πίνακας 1 παρουσιάζει δεδομένα σχετικά με τις μεθόδους συγκέντρωσης αδενοϊού και τα ποσοστά ανίχνευσης από διάφορες χώρες τις τελευταίες τρεις δεκαετίες σε νερά ποταμών. Στη δεκαετία του 1990, τεχνικές συγκέντρωσης όπως η προσρόφηση-έκλουση και η κατακρήμνιση PEG οδήγησαν σε μεταβλητά ποσοστά ανίχνευσης, που κυμαίνονταν από 21,43% (Puig et al., 1994). Ωστόσο, από τις δεκαετίες του 2000 και του 2010, προηγμένες μέθοδοι όπως η υπερδιήθηση εφαπτομενικής ροής και η προσρόφηση-έκλουση υαλοβάμβακα ενίσχυσαν την ευαισθησία ανίχνευσης. Πρόσφατες μελέτες που χρησιμοποιούν αυτές τις βελτιωμένες τεχνικές αναφέρουν μέσα ποσοστά ανίχνευσης αδενοϊού πάνω από 70% και έως και 100% σε ορισμένες περιπτώσεις (Sedji et al., 2018).

Γεωγραφικά, οι χώρες υψηλότερου εισοδήματος στην Ευρώπη και τη Μέση Ανατολή που έχουν εφαρμόσει σύγχρονα πρωτόκολλα συγκέντρωσης τείνουν να επιτυγχάνουν ποσοστά ανίχνευσης αδενοϊού 80% ή υψηλότερα. Εν τω μεταξύ, περιοχές

χαμηλότερου εισοδήματος όπως η Αφρική που εξακολουθούν να χρησιμοποιούν παλαιότερες μεθόδους παρουσιάζουν χαμηλότερα ποσοστά θετικότητας 22-44% σε μελέτες από τα μέσα του 2000 (van Heerden et al., 2004).

Αστροϊός (AstV): Οι αστροϊοί (AstV) απαντώνται σε επιφανειακά και υπόγεια ύδατα που προορίζονται για πόσιμους σκοπούς, στα θαλάσσια ύδατα και στα λύματα (Magana-Arachchi and Wanigatunge, 2020). Μια μελέτη για τη μοριακή ανίχνευση ιών γαστρεντερίτιδας ανέφερε ότι το HAstV είχε μικρότερη εμφάνιση από τα EV, RV, NoV και AdV (Chitambar et al., 2012). Οι ηλικιωμένοι και τα άτομα με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα είναι ευαίσθητα στη γαστρεντερίτιδα που συνδέεται με το HAstV (Vu et al., 2017 and Wohlgemuth et al., 2019). Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στον παθογόνο ρόλο του ιού που εκτελείται σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα. Όλοι οι συμμετέχοντες που βρέθηκαν θετικοί στον ανθρώπινο αστροϊό (AstV) (15/15, 100%) προέρχονταν από νοικοκυριά χαμηλού εισοδήματος με καθεστώς ανεργίας ή άνεργους κηδεμόνες (Εικόνα 9). Αρκετά παιδιά θετικά στον αστροϊό (AstV) (5/15, 33,33%) ζούσαν παρουσία ζώων. Συνολικά το 66% (10/15) των μολυσμένων παιδιών θήλασαν. Ωστόσο, όλες αυτές οι σχετικές συνθήκες διαβίωσης δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.



Εικόνα 9. Συνθήκες διαβίωσης που σχετίζονται με θετικά κρούσματα αστροϊού (Πηγή: Siqueira et al., 2017) https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8618259/?utm_source=chatgpt.com

Οι αστροϊοί (AstV) είναι γνωστό ότι παραμένουν στο περιβάλλον, ιδιαίτερα σε πηγές νερού, προκαλώντας ανησυχίες σχετικά με τη μετάδοσή τους και την πιθανότητα εμφάνισης εστιών. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι αστροϊοί (AstV) μπορούν να παραμένουν μολυσματικοί στο νερό για παρατεταμένες περιόδους. (Siqueira et al., 2017). Η παρουσία ανθρώπινων αστροϊών (AstV) σε δείγματα νερού δείχνει δυνητικούς κινδύνους μόλυνσης μέσω του νερού, τονίζοντας τη σημασία της διερεύνησης ιών σε μήτρες νερού για επιδημιολογικές μελέτες και σκοπούς εκτίμησης κινδύνου. Προηγούμενες συστηματικές ανασκοπήσεις για τους αστροϊούς (AstV) έχουν διερευνήσει κυρίως την επιδημιολογία σε ασθενείς με γαστρεντερίτιδα (Arowolo et al., 2020), ειδικά σε παιδιά. Μόνο μία συστηματική ανασκόπηση έχει εξεταστεί για τη μόλυνση των τροφίμων από τους αστροϊούς (AstV). Επιπλέον, ενώ μια συστηματική ανασκόπηση έχει διερευνήσει το ρυθμό αποσύνθεσης των αστροϊών

(AstV) στο νερό, δεν υπάρχει επί του παρόντος καμία μελέτη που να έχει συνολικά διερευνήσει τη συνολική μόλυνση του αστροϊού (AstV) σε διαφορετικά ύδατα (Olortegui et al., 2018).

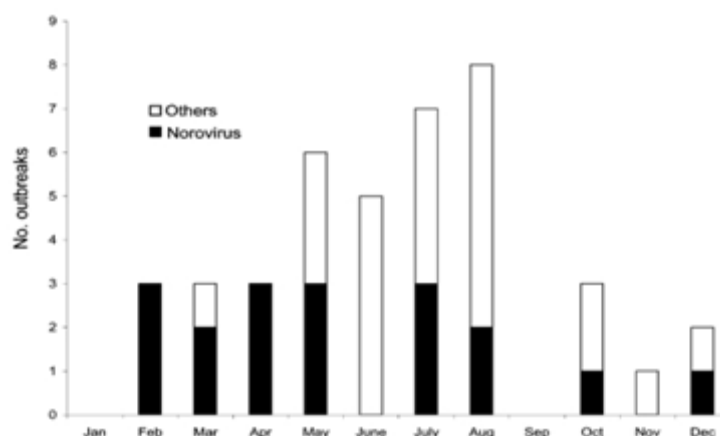
Νοροϊός (NoV): Ο νοροϊός (NoV) είναι η κυρίαρχη αιτία ιογενούς οξείας γαστρεντερίτιδας παγκοσμίως, προκαλώντας συνολικό κόστος 4,2 δισεκατομμυρίων δολαρίων ετησίως (Ahmed et al., 2014). Ενώ από άτομο σε άτομο είναι η πιο αναφερόμενη οδός μετάδοσης, ο νοροϊός συνδέεται επίσης με υδατογενείς και τροφιμογενείς ασθένειες, μεταξύ άλλων μέσω της κατανάλωσης μολυσμένων δίθυρων μαλακίων οστρακοειδών, όπως στρείδια και μύδια (de Graaf et al., 2016, Mathijs et al., 2012). Ο νοροϊός (NoV) παρουσιάζει σημαντικό κίνδυνο για την υγεία των καταναλωτών οστρακοειδών και οικονομικό κίνδυνο για τη βιομηχανία παραγωγής οστρακοειδών. Η κύρια αιτία μόλυνσης των οστρακοειδών είναι μέσω της βιοσυσσώρευσης νοροϊού (NoV) από ύδατα που επηρεάζονται από ανεπεξέργαστα ή ανεπαρκώς επεξεργασμένα λύματα ή από άλλες πηγές, όπως σηπτική απορροή δεξαμενών ή απορρίψεις σκαφών. Για την αξιολόγηση του κινδύνου μόλυνσης, η κατανόηση της επιμονής των μολυσματικών ιών στο περιβάλλον είναι ένας σημαντικός παράγοντας (Campros et al., 2014). Ενώ άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι οι ιοί όπως οι εντεροϊοί μπορούν να παραμείνουν μολυσματικοί για εβδομάδες σε θερμοκρασίες 15 °C ή χαμηλότερες, τα δεδομένα σχετικά με τον νοροϊό (NoV) στο περιβάλλον είναι περιορισμένα (Bae and Schwab, 2008).

Κάθε χρόνο εκτός από το 2001, αρκετές εστίες νοροϊού (NoV) εμφανίστηκαν στη Φινλανδία. Κατά τη διάρκεια της περιόδου μελέτης, αντιμετωπίστηκαν 6 μεγάλες επιδημίες νοροϊού (NoV) με >200 περιπτώσεις μόλυνσης. Οι περισσότερες μολύνσεις από νοροϊό εμφανίστηκαν σε συστήματα υπόγειων υδάτων, τα οποία χρησιμοποιούνται συχνότερα στη Φινλανδία. Σε 3 περιπτώσεις επιδημιών, χρησιμοποιήθηκε νερό επιφάνειας, λίμνης ή ποταμού. Από τις μολύνσεις υπόγειων υδάτων, 8 σημειώθηκαν σε δημόσια κοινοτικά συστήματα και 7 σε ιδιωτικά πηγάδια υπόγειων υδάτων.

Η γεωγραφική κατανομή των υδατογενών εστιών νοροϊού (NoV) παρουσιάζεται στην (Εικόνα 10). Κρούσματα σημειώθηκαν σε όλη τη χώρα, από το νότιο αρχιπέλαγος έως τα βορειότερα τμήματα της Φινλανδίας (Εικόνα 11). Οι μισές (20 από τις 41) από τις υδατογενείς επιδημίες εμφανίστηκαν το καλοκαίρι και τα κρούσματα νοροϊού (11 από τα 15) ήταν πιο συνηθισμένα στα τέλη του χειμώνα έως την άνοιξη (Φεβρουάριος-Μάιος). Στην πραγματικότητα, τα περισσότερα κρούσματα το χειμώνα προκλήθηκαν από νοροϊούς, ενώ το καλοκαίρι προκλήθηκαν κυρίως από βακτήρια (Gilgen et al., 1997).



Εικόνα 10. Χάρτης της Φινλανδίας; Οι κύκλοι δείχνουν την κατανομή των υδατογενών εστιών νοροϊού, 1998-2003 (Πηγή: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3367355/figure/F1/>)



Εικόνα 11. Μηνιαία κατανομή των υδατογενών εστιών, συμπεριλαμβανομένων των εστιών νοροϊού, Φινλανδία, 1998–2003 (Πηγή: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3367355/figure/F2/0>)

Ηπατίτιδα Α (HAV): Ορισμένοι εντερικοί ιοί ανιχνεύθηκαν σε δείγματα νερού και λυμάτων, όπως ο ιός της ηπατίτιδας Α (Εικόνα 12) (Borchardt et al., 2004). Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1973 από τον Feinstone, ένα σφαιρικό σωματίδιο 27 νανομέτρων με ανοσοηλεκτρονική μικροσκοπία σε δείγμα κοπράνων ασθενών με ηπατίτιδα Α (Koff et al., 2002). Ο ιός της ηπατίτιδας Α (HAV), μέλος της οικογένειας των πικορναϊών, είναι ένας ιός RNA που ευθύνεται για 1,4 εκατομμύρια κρούσματα μόλυνσης εμφανίζονται ετησίως παγκοσμίως (Melnick et al., 1992), με εκτιμώμενους 7.134 θανάτους το 2016. Σχεδόν οι μισές από αυτές τις περιπτώσεις αναφέρθηκαν στην Ασία (WHO et al., 2021). Πρόσφατες επιδημίες της νόσου έχουν δείξει αύξηση

294% στις μολύνσεις μεταξύ 2016-2018 σε σύγκριση με το 2013-2015 (Wasley et al., 2018). Το 1988, περίπου 300.000 άνθρωποι στη Σαγκάη ανέφεραν συμπτώματα ηπατίτιδας Α (HAV) μετά την κατανάλωση ωμών κυδωνιών, που περιγράφεται ως μία από τις μεγαλύτερες επιδημίες της σύγχρονης εποχής (Cooksley et al., 2000). Πολλές επιδημίες που σχετίζονται με συγκεκριμένα τρόφιμα έχουν επηρεάσει πάνω από 300 ασθενείς από πολλές πολιτείες των Ηνωμένων Πολιτειών τα τελευταία χρόνια (2013-2019). Οι επιδημίες έχουν σχετιστεί με την κατανάλωση φρέσκων βατόμουρων, κατεψυγμένων φραουλών, ωμών ή ακατάλληλα μαγειρεμένων στρειδιών, κυδωνιών και σπόρων ροδιού από μολυσμένων από λύματα νερών (Elbashir, et al., 2018).



Εικόνα 12. Απεικόνιση του ιού HAV (Πηγή: <https://ena.our-dogs.info/facts-ph.html>)

Περίπου 1,5 εκατομμύρια άνθρωποι μολύνονται με ηπατίτιδα Α κάθε χρόνο (Εικόνα 12). Ωστόσο, ο αριθμός αυτός φαίνεται να υποτιμάται και το ποσοστό μόλυνσης είναι πιθανώς πολύ υψηλότερο (Andani et al., 2020), καθιστώντας τον ιο της ηπατίτιδας Α (HAV) παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), υπήρξαν 7.134 θάνατοι παγκοσμίως που προκλήθηκαν από αυτή την ασθένεια το 2016, αντιπροσωπεύοντας το 0,5% της θνησιμότητας λόγω ιογενούς ηπατίτιδας. Η ενδημικότητα είναι υψηλή στις χώρες χαμηλού εισοδήματος, κυρίως λόγω του ανεπαρκούς ασφαλούς νερού και της κακής αποχέτευσης και υγιεινής (Hu et al., 2018). Σε αυτές τις χώρες, τα περισσότερα παιδιά (90%) μολύνονται με ηπατίτιδα Α (HAV) πριν από την ηλικία των 10 ετών, συχνά χωρίς συμπτώματα. Αντίθετα, τα ποσοστά μόλυνσης είναι χαμηλά σε χώρες υψηλού εισοδήματος με καλές συνθήκες υγιεινής. Ο περιορισμός της περιβαλλοντικής μόλυνσης είναι απαραίτητος για τον έλεγχο του ιού της ηπατίτιδας Α (HAV), εξ ου και η σημασία της κατανόησης των περιβαλλοντικών πηγών του ιού της ηπατίτιδας Α (HAV). Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει την ανίχνευση του HAV σε τρόφιμα, μη επεξεργασμένα και επεξεργασμένα λύματα και άλλα υδάτινα περιβάλλοντα (Van der Poel et al., 2022).

Έχουν δημοσιευθεί αρκετές συστηματικές ανασκοπήσεις σχετικά με το HAV στο νερό ή στα τρόφιμα, εστιάζοντας σε ορισμένα τρόφιμα ή συγκεκριμένες μήτρες νερού. Οι

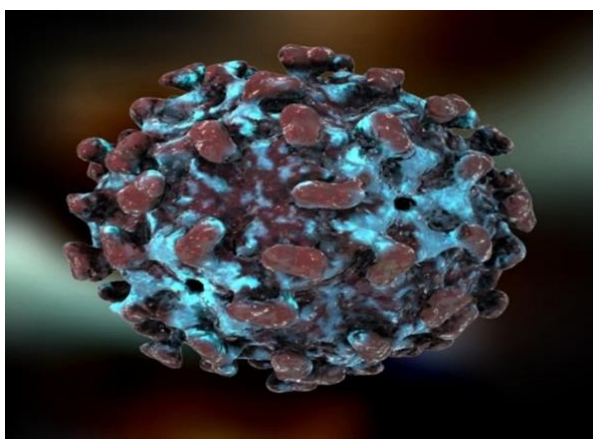
Chatziprodromidou et al., έδειξαν ότι ο HAV ήταν ο δεύτερος πιο άφθονος ιός στα φρέσκα προϊόντα (Chatziprodromidou et al., 2018). Οι Bellou et al., διαπίστωσαν ότι ο ιός της ηπατίτιδας Α (HAV) ήταν ένα από τα πιο κοινά ιογενή παθογόνα που ανιχνεύθηκαν στα οστρακοειδή (Bellou et al., 2013). Οι Thébault et al. κατέδειξαν τον κρίσιμο ρόλο του μη επεξεργασμένου πόσιμου νερού, των οστρακοειδών και των φυτικών προϊόντων στη σποραδική λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Α (HAV)(Thébault et al., 2020).

Μια πρόσφατη ανασκόπηση από τον Gholipour και τους συνεργάτες του τόνισε ότι ο ιός της ηπατίτιδας Α (HAV) βρίσκεται συχνά στην ιλύ καθαρισμού λυμάτων (Gholipour et al 2022). Οι Boehm et al. 2019 εξέτασαν τα ποσοστά αποσύνθεσης των υδατογενών ιών, συμπεριλαμβανομένου του ιού αυτού, στα επιφανειακά ύδατα (Boehm, et al 2019). Ο Kuodi και οι συνεργάτες του χαρακτήρισαν την περιβαλλοντική παρουσία του HAV σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος, δείχνοντας ότι η εμφάνιση του HAV μειώθηκε κατά 10% κατά την περίοδο επανεξέτασης (2005-2019) (Kuodi, 2020).

Επίσης, τρόφιμα που έχουν εμπλακεί σε πολλαπλές εστίες ηπατίτιδας Α (HAV) (π.χ. μαρούλι, πράσινα κρεμμύδια, φράουλες, σμέουρα και ρόδι) τυπικά τρώγονται ωμά (Collier et al.,2014). Για παράδειγμα, ένα μεγάλο ξέσπασμα σε ένα μόνο εστιατόριο στις Ηνωμένες Πολιτείες συνδέθηκε με εισαγόμενα πράσινα κρεμμύδια (CDC 2003). Έχουν εμφανιστεί εστίες που σχετίζονται με τα οστρακοειδή μετά την κατανάλωση ωμών ή μερικώς μαγειρεμένων στρειδιών, κυδωνιών, χτενιών ή μυδιών συλλέγονται από μολυσμένα νερά (Viray, 1991). Μολυσμένα τρόφιμα εξακολουθούν να εμφανίζονται και παραμένουν κίνδυνος (π.χ. πολυκρατική εστία που συνδέεται με κατεψυγμένες φράουλες και επιδημία στη Χαβάη) συνδέονται με κατεψυγμένα χτένια που τρώγονται ωμά, και τα δύο εμφανίστηκαν το 2016) (Viray et al., 2016).

Ηπατίτιδα Ε (HEV): Η ηπατίτιδα Ε (HEV) (Εικόνα 13) είναι μια ηπατική λοίμωξη που προκαλείται από τον ιό της ηπατίτιδας Ε (HEV), έναν μονόκλωνο ιό RNA που ανήκει στην οικογένεια *Hepeviridae*, είδος *Orthohepevirus A* του γένους *Orthohepevirus* (Capai et al., 2018). Ο HEV είναι ένας εντερικός ιός υπεύθυνος τόσο για οξείες όσο και για χρόνιες διαταραχές κυρίως στο ήπαρ (Pischke et al., 2017). Μπορεί επίσης να προκαλέσει νευρολογικές εκδηλώσεις τόσο σε ασθενείς με οξεία όσο και σε χρόνια λοίμωξη από HEV (Cheung et al., 2012, Lhomme et al., 2021), νεφρά (Kamar et al., 2012), πάγκρεας και θρομβοκυττάρια (Aggarwal, 2011). Σε χώρες με περιορισμένη πρόσβαση σε βασικές υπηρεσίες ύδρευσης, αποχέτευσης, υγιεινής και υγείας, η ανεπαρκής διάθεση και επεξεργασία των λυμάτων και η μόλυνση του πόσιμου και αρδευτικού νερού οδηγούν σε επιδημίες. Πράγματι, υπάρχουν σημαντικές επιδημιολογικές ενδείξεις μετάδοσης HEV μέσω του νερού, ιδίως στη Νότια/Νοτιοανατολική/Κεντρική Ασία και τη Βορειοδυτική Αφρική (Hakim et al., 2017).

Ο σημαντικότερος τρόπος μετάδοσης στις μη βιομηχανικές χώρες, δεν έχει διερευνηθεί στις ανεπτυγμένες χώρες, παρά τις διαφορετικές μελέτες που κατέδειξαν την εμφάνιση του HEV σε υδάτινα περιβάλλοντα. Η μετάδοση μέσω των υδάτων μπορεί να είναι άμεση, μέσω επαφής με μολυσμένα πόσιμα ύδατα ή ύδατα αναψυχής, ή έμμεση, π.χ. μέσω μόλυνσης των περιοχών παραγωγής οστρακοειδών ή μέσω άρδευσης καλλιεργειών με τη χρήση μολυσμένων υδάτων. Επιπλέον, ορισμένες μελέτες επεσήμαναν ότι τα επιφανειακά ύδατα μπορούν να μολυνθούν κοντά σε εγκαταστάσεις παραγωγής χοίρων, ιδίως ως συνέπεια των υδάτων απορροής και των συμβάντων διήθησης ή μετά τη γεωπονική χρήση υδαρούς κοπριάς χοίρων (Gentry-Shields et al., 2015, Steyer et al., 2011).



Εικόνα 13. Απεικόνιση του ιού HEV (Πηγή: <https://www.turbosquid.com/3d-models/hev-virus-3d-max/656035>)

Μέχρι σήμερα έχουν δημοσιευθεί μερικές συστηματικές ανασκοπήσεις σχετικά με τον HEV (Εικόνα 13). Οι Li et al. δημοσίευσαν μια συστηματική ανασκόπηση σχετικά με την παγκόσμια επιδημιολογία της λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Ε και τους σχετικούς παράγοντες κινδύνου (Li et al., 2020). Μια συστηματική ανασκόπηση που διεξήχθη μόνο στη Βραζιλία συνέλεξε και ανέλυσε δεδομένα σχετικά με τον HEV σε ανθρώπους, ζώα και το περιβάλλον από την άποψη της One Health υποδεικνύοντας ότι ο HEV-3 είναι ευρέως διαδεδομένος στη χώρα και η υγειονομική παρακολούθηση είναι απαραίτητη κατά την εθνική παραγωγή χοίρων (Moraes et al., 2021). Οι Modiyinji et al., 2021 διεξήγαγαν μια συστηματική ανασκόπηση σχετικά με τον επιπολασμό του HEV σε ζώα στην Αφρική, επισημαίνοντας ότι ορισμένα ζώα θα μπορούσαν να είναι η δεξαμενή του HEV και υποδεικνύοντας την ανάγκη μοριακών επιδημιολογικών μελετών για τη διερεύνηση της ζωνοσογόνου μετάδοσης (Modiyinji et al., 2021). Οι αφηγηματικές ανασκοπήσεις έχουν εξετάσει την εμφάνιση του HEV σε τρόφιμα και υδάτινα συστήματα (Treagus et al., 2021), αλλά καμία συστηματική ανασκόπηση δεν έχει ακόμη αντιμετωπίσει τον επιπολασμό του HEV σε υδάτινα περιβάλλοντα, παρά το γεγονός ότι έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες για διαφορετικές μήτρες νερού σε διάφορες περιοχές του κόσμου, τόσο στις ανεπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Εντεροϊοί (EV): Από ιστορική άποψη, ο Joseph Melnick ήταν ο πρώτος, το 1947, που κατέγραψε τη διασπορά στελεχών του ιού της πολιομυελίτιδας από λύματα, ένα θεμελιώδες βήμα για την περιβαλλοντική ιολογία (Melnick, 1947). Έκτοτε, το πεδίο αυτό επεκτείνεται συνεχώς και πολλές μελέτες επικεντρώνονται σήμερα στη μόλυνση του περιβάλλοντος από εντεροϊούς (EVs). Οι εντεροϊοί εντοπίζονται παγκοσμίως, σε κάθε ήπειρο: Ευρώπη, Βόρεια Αμερική, Νότια Αμερική, Ασία ή Ωκεανία. Επιπλέον, οι εντεροϊοί ανιχνεύονται σχεδόν σε κάθε πηγή νερού, καθώς τα ακατέργαστα ή ανεπαρκώς επεξεργασμένα λύματα μπορούν να μολύνουν το θαλάσσιο νερό, τα γλυκά επιφανειακά νερά ή τα υπόγεια ύδατα, τα οποία χρησιμοποιούνται ως δεξαμενές για νερό άρδευσης, νερό αναψυχής ή πόσιμο νερό (Rajtar et al., 2008).

Οι εντεροϊοί (EVs) μπορούν να βρεθούν σε νερό άρδευσης, σε μολυσμένα λαχανικά και σε λύματα, όπως ανιχνεύτηκαν στην κεντρική Αργεντινή σε 37 δείγματα νερού που συλλέχθηκαν την περίοδο Ιουλίου–Δεκεμβρίου 2012 (Perez et al., 2018). Στην Κίνα, γλυκά νερά αναψυχής από τρεις λίμνες ελέγχθηκαν για την παρουσία EVs. Από τις 25 περιοχές δειγματοληψίας, οι 14 ήταν θετικές για EVs και στις τρεις λίμνες (Allmann et al., 2013). Δείγματα επιφανειακών, υπόγειων και λυμάτων που συλλέχθηκαν το 2004–2005 στην Ταϊβάν ήταν θετικά σε ποσοστό 40% των περιπτώσεων (Chen et al., 2008). Η ανάλυση αλληλουχίας αποκάλυψε συγγένεια μεταξύ στελεχών coxsackievirus A (CVA) που βρέθηκαν στο Πακιστάν και στελεχών Coxsackievirus A (CVA) από την Ελλάδα, τη Σιγκαπούρη και τις ΗΠΑ. Περίπου το 19%–28% των δειγμάτων πόσιμου νερού βρέθηκαν μολυσμένα με EVs σε τρεις πόλεις του Πακιστάν (Ahmad et al., 2015). Στο Καρατσι, για παράδειγμα, το 43% από τα 30 δείγματα νερού βρύσης περιείχαν EVs (Rashid et al., 2021). Η κλιματική θέρμανση αυξάνει τους κινδύνους μολυσματικών ασθενειών (Curriero et al., 2001, Chen et al., 2012, Tornevi et al., 2013), συμπεριλαμβανομένων των λοιμώξεων από EVs. Εντονότερες βροχοπτώσεις στη λεκάνη της Μεσογείου συσχετίζονται με αύξηση των EVs στα ιζήματα και στα νερά ποταμών, καθώς EVs ανιχνεύονται στο 50% των δειγμάτων που συλλέχθηκαν αμέσως μετά από επεισόδια βροχόπτωσης, σε σύγκριση με το 20% των δειγμάτων που συλλέχθηκαν 15 ή περισσότερες ημέρες μετά την τελευταία βροχή. Η μόλυνση πηγών νερού και οστρακοειδών στην Αφρική έχει ανασκοπηθεί από τους Urfold et al. (2021). Οκτώ δείγματα μολυσμένων ρευμάτων που συλλέχθηκαν το 2017–2018 στη Νιγηρία αποκάλυψαν μεγάλη ποικιλία EVs, με 93 στελέχη που ανήκαν σε 45 ορότυπους να έχουν ταυτοποιηθεί (Majumdar et al., 2021).

Ο περιορισμός αυτών των παρατηρήσεων είναι ότι η αιτιώδης σχέση μεταξύ της ανίχνευσης εντεροϊών στο νερό και της επιδημιολογίας παραμένει άγνωστη. Η παρουσία εντεροϊών στο νερό πιθανόν οφείλεται σε μόλυνση από λύματα που συνδέεται με μια εν εξελίξει επιδημία. Η εμφάνιση της επιδημιολογίας που βασίζεται στην ανάλυση λυμάτων (wastewater-based epidemiology) έχει αποδειχθεί χρήσιμη για την παρακολούθηση μολυσματικών ασθενειών (Hassard et al., 2023), όπως η πανδημία του SARS-CoV-2 (Cancela et al., 2023), αλλά χρησιμοποιείται επίσης με

επιτυχία για την παρακολούθηση εντεροϊών (Asghar et al., 2014, Boehm et al., 2024, Verani et al., 2024). Μια μελέτη που παρακολουθούσε τον EV-D68 σε λύματα και σε ρινοφαρυγγικά δείγματα βρήκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο παρατηρήσεων (Erster et al., 2022). Επιπλέον, μια μελέτη δείχνει ότι η παρουσία του ιού της γρίπης των πτηνών σε λύματα αποτέλεσε έναν πρώιμο δείκτη για την έναρξη επιδημιών (Falender et al., 2025). Αυτό υπογραμμίζει τη χρησιμότητα της παρακολούθησης των υδάτων για εντεροϊούς.

1.3 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΙΩΝ ΣΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΥΔΑΤΑ

Κρίσιμος για την αξιολόγηση των κινδύνων από την υδατομεταφερόμενη μετάδοση των ιών είναι ο προσδιορισμός της εμφάνισης και της επιβίωσής τους στο περιβάλλον. Η ανάλυση ευαισθησίας έχει δείξει ότι η μεγαλύτερη αβεβαιότητα στην ποσοτική εκτίμηση μικροβιακού κινδύνου προέρχεται από την εκτίμηση της έκθεσης (Haas et al., 1999). Όσο ακριβέστερα μπορούμε να προβλέψουμε την έκθεση, τόσο πιο ακριβείς μπορούμε να είμαστε στην εκτίμηση του κινδύνου. Ωστόσο, αυτοί οι ιοί μπορεί να απεκκρίνονται αδρανοποιημένοι ή να μην παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον. Χαρακτηριστικό των εντερικών ιών είναι η παρατεταμένη επιβίωσή τους στο περιβάλλον. Αυτό είναι πιθανώς αποτέλεσμα της προσαρμογής τους στην μεταδοτική οδό μέσω του νερού (Ansari et al., 1992). Παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση του εντεροϊού στο νερό (Πίνακας 3):

Θερμοκρασία: Ο σημαντικότερος παράγοντας που ελέγχει την επιβίωση του ιού είναι η θερμοκρασία (Yates et al., 1985). Η επιβίωση των ιών στα περισσότερα περιβάλλοντα μπορεί να προβλεφθεί από τη θερμοκρασία. Όσο χαμηλότερη είναι η θερμοκρασία, τόσο περισσότερο παραμένουν οι ιοί. Η θερμοκρασία επηρεάζει το ρυθμό με τον οποίο συμβαίνει η μετουσίωση πρωτεϊνών και νουκλεϊνικών οξέων, καθώς και τις χημικές αντιδράσεις γενικά που μπορούν να αποικοδομήσουν το ιικό καψίδιο (π.χ. ένζυμα). Σε θερμοκρασίες κατάψυξης ή κοντά στο μηδέν, οι ιοί μπορεί να επιβιώσουν για πολλούς μήνες (Goyal et al., 1984). Οι Kutz και Gerba (1988) ανέλυσαν όλα τα δεδομένα σχετικά με την επιβίωση των ιών στα επιφανειακά ύδατα και διαπίστωσαν ότι οι ιοί επιβιώνουν περισσότερο στο έδαφος από τα επιφανειακά ύδατα που διατηρούνται στο εργαστήριο (Πίνακας 3). Στους 8°C στα υπόγεια ύδατα και στους 4°C στα επιφανειακά ύδατα, η αδρανοποίηση του ιού πλησίασε λιγότερο από 0,01 log₁₀ ανά ημέρα.

Η ηπατίτιδα Α, οι αδενοϊοί και οι παρβοϊοί είναι από τους πιο ανθεκτικούς στη θερμότητα εντερικούς ιούς (Crance et al., 1998, Bruniger et al., 2000). Η σύνθεση του νερού επηρεάζει επίσης τη θερμική αδρανοποίηση των ιών. Παράγοντες όπως το pH, τα άλατα, τα οργανικά και η παρουσία συγκεκριμένης ύλης έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τη θερμική σταθερότητα των ιών (Pohjanpelto et al., 1961). Ορισμένα κατιόντα ενισχύουν τις επιδράσεις της θερμοκρασίας, ενώ άλλα έχουν το αντίθετο

αποτέλεσμα. Η αδρανοποίηση του ιού σε υψηλές θερμοκρασίες πιθανώς οφείλεται κυρίως στη μετουσίωση πρωτεϊνών. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, η αδρανοποίηση λόγω βλάβης του RNA μπορεί επίσης να είναι σημαντική.

Πίνακας 3. Παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση του εντεροϊού στο νερό (Πηγή: https://waterresearchanddevelopmentconsultancy.com/virus-survival-in-water/?utm_source=chatgpt.com)

ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ	Ίσως ο πιο σημαντικός παράγοντας. μεγαλύτερη επιβίωση σε χαμηλότερες θερμοκρασίες
Φως	Το υπεριώδες φως στο φως του ήλιου μπορεί να βλάψει το νουκλειικό οξύ προκαλώντας το σχηματισμό dimmers
pH	Οι περισσότεροι ιοί είναι σταθεροί σε τιμές pH των περισσότερων φυσικών νερών
Άλατα	Ορισμένοι ιοί προστατεύονται από την αδρανοποίηση της θερμότητας από την παρουσία ορισμένων κατιόντων
Οργανική ύλη	Η παρουσία λυμάτων συνήθως οδηγεί σε μεγαλύτερη επιβίωση
Αιωρούμενα στερεά ή ιζήματα	Η συσχέτιση με στερεά παρατείνει την επιβίωση
Διεπαφές αέρα – νερού	Οι ιοί που έχουν μεγαλύτερη υδροφοβία είναι πιο πιθανό να προσελκύονται από διεπαφές αέρα νερού όπου μπορεί να συμβεί μετουσίωση πρωτεϊνών καψιδίου
Βιολογικοί παράγοντες	Η υδρόβια μικροχλωρίδα είναι συνήθως ανταγωνιστική

pH: Στο pH των περισσότερων φυσικών νερών (pH 5-9), οι εντερικοί ιοί είναι πολύ σταθεροί. Οι περισσότεροι εντερικοί ιοί είναι πιο σταθεροί σε pH μεταξύ 3 και 5 από

ό, τι σε pH 9 και 12. Οι εντεροϊοί μπορούν να επιβιώσουν σε pH 11,0-11,5 και 1,0-2,0 για σύντομες χρονικές περιόδους. Ωστόσο, οι αδενοϊοί και οι ροταϊοί είναι ευαίσθητοι στην αδρανοποίηση σε pH 10,0 ή μεγαλύτερο (Gerba et al., 1979). Η ευαισθησία των εντερικών ιών στο pH μπορεί να εξαρτάται από το στέλεχος.

Φως: Το υπεριώδες (UV) φως στο ηλιακό φως μπορεί να αδρανοποιήσει τους ιούς προκαλώντας διασταυρούμενη σύνδεση μεταξύ των νουκλεοτιδίων. Οι Fujioka και Yoneyama (2002) διαπίστωσαν ότι αρκετοί εντεροϊοί στο θαλασσινό νερό αδρανοποιήθηκαν πολύ πιο γρήγορα παρουσία ηλιακού φωτός από ό, τι στο σκοτάδι. Ο ρυθμός αδρανοποίησης ήταν πολύ μικρότερος το χειμώνα από ό, τι το καλοκαίρι (Fattal et al., 1983). Οι δίκλωνοι ιοί DNA (π.χ. αδενοϊοί) είναι σημαντικά πολύ πιο ανθεκτικοί στην αδρανοποίηση του υπεριώδους φωτός από τους εντεροϊούς, επειδή μπορούν να χρησιμοποιήσουν ένζυμα επιδιόρθωσης κυττάρων ξενιστών για να επιδιορθώσουν τη βλάβη του υπεριώδους φωτός (Gerba et al., 2002).

Το ορατό φως μπορεί επίσης να επηρεάσει την επιβίωση των ιών με μια διαδικασία που ονομάζεται φωτοδυναμική αδρανοποίηση. Σε αυτή τη διαδικασία, ο ιός «ευαισθητοποιείται» στη φωτοοξείδωση μέσω αλληλεπίδρασης του ιικού γονιδιώματος με ορισμένες ουσίες (Wallis and Melnick, 1965). Πολλές συνθετικές και φυσικές ουσίες, όπως λιγίνες, φουλβικά οξέα, χουμικά οξέα και βιταμίνες, μπορούν να λειτουργήσουν ως φωτοευαισθητοποιητές. Αυτές οι ουσίες απορροφούν την ακτινοβολία και μεταφέρουν επιλεκτικά αυτή την ενέργεια στο διαλυμένο οξυγόνο, το οποίο διεγείρεται στην εξαιρετικά οξειδωμένη του κατάσταση. Η διάρκεια της έκθεσης στο φως και η έντασή της επηρεάζουν επίσης το ρυθμό αδρανοποίησης του ιού. Μια φωτοδυναμική ουσία έχει αποδειχθεί σε κύτταρα φυκών, η οποία είναι αντική (Melnick and Gerba, 1980).

Άλατα και μέταλλα: Οι ιοί σχεδόν πάντα επιβιώνουν περισσότερο στο γλυκό νερό από ό, τι στο θαλασσινό νερό. Αυτό φαίνεται να οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην παρουσία ανταγωνιστικών μικροοργανισμών και όχι στην αυξημένη συγκέντρωση αλάτων (Kapusinski and Mitchell, 1980). Ορισμένα βαρέα μέταλλα όπως ο χαλκός και το ασήμι είναι γνωστό ότι έχουν αντικές ιδιότητες. Οι συγκεντρώσεις τους στο νερό είναι συνήθως πολύ χαμηλές για να έχουν επίδραση στους ιούς στα φυσικά νερά (Thurman and Gerba, 1988).

Διασυνδέσεις: Ορισμένοι κολιφάγοι έχει αποδειχθεί ότι αδρανοποιούνται σε δυναμικές διεπαφές αέρα-νερού-στερεού (Thompson, Yates et al., 1999). Αυτό οφείλεται πιθανώς στη μετουσίωση του καψιδίου της ιικής πρωτεΐνης. Το αποτέλεσμα έχει αποδειχθεί ότι αυξάνεται καθώς αυξάνεται η ιοντική ισχύς ενός διαλύματος. Όσο πιο υδρόφοβο είναι το ιικό καψίδιο, τόσο πιο έντονο είναι το αποτέλεσμα.

Η προσρόφηση του ιού στα στερεά παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωσή τους στα φυσικά νερά. Οι εντερικοί ιοί συνδέονται εύκολα με σωματίδια στο νερό και τα ιζήματα. Έτσι, οι ιοί βρίσκονται συνήθως σε μεγαλύτερους αριθμούς στα ιζήματα από

ό, τι στο υπερκείμενο νερό (Goyal et al., 1978). Η προσρόφηση μπορεί να δράσει για να παρατείνει την επιβίωση του ιού, αλλά τέτοιες συσχετίσεις μπορεί επίσης να ενισχύσουν την αδρανοποίηση του ιού (Murray, Laband, 1979). Μελέτες έχουν δείξει ότι οι ιοί προσροφούνται εύκολα στην άμμο, τους καθαρούς αργίλους, τα βακτηριακά κύτταρα, τα σωματίδια οργανικής ύλης, τις ιλύες κ.λπ. Η προσρόφηση εντερικών ιών στα ιζήματα έχει αποδειχθεί ότι παρατείνει την επιβίωση των εντεροϊών (Smith et al., 1978). Η προστατευτική επίδραση των αργίλων στην επιβίωση του ιού μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της προσρόφησης ενζύμων ή άλλων ουσιών που αδρανοποιούν τους ιούς, της αυξημένης σταθερότητας του ιικού καψιδίου, της πρόληψης του σχηματισμού αδρανών και της παρεμβολής στη δράση ιοκτόνων ουσιών. Οι άργιλοι μπεννονίτη έχει αποδειχθεί ότι προστατεύουν τους ιούς από την αδρανοποίηση της ριβονουκλεάσης με την προσρόφηση αυτού του ενζύμου στον πηλό (Singer and Fraenkel-Conrat, 1961). Τα θαλάσσια ιζήματα και άργιλοι προστατεύουν επίσης τους ιούς από τη θερμική αδρανοποίηση στο θαλασσινό νερό (Liew and Gerba, 1980).

Μικροχλωρίδα: Η σημασία των βακτηρίων και των ανώτερων μορφών ζωντανών οργανισμών στην επιβίωση των ιών σε οποιοδήποτε σώμα νερού ποικίλει χωρικά και χρονικά ανάλογα με τους τύπους και τους αριθμούς της ανταγωνιστικής μικροχλωρίδας που υπάρχει. Η αποτυχία να αποδειχθεί η συμμετοχή των βακτηρίων στην αδρανοποίηση των ιών σε ένα δεδομένο νερό μπορεί απλώς να σημαίνει ότι ένας οργανισμός που επηρεάζει την επιβίωση του ιού δεν συλλέχθηκε στο συγκεκριμένο δείγμα. Έχουν αποδειχθεί στοιχεία για τη συμμετοχή της μικροχλωρίδας για τα επιφανειακά γλυκά ύδατα, τα υπόγεια ύδατα και το θαλασσινό νερό. Τα περισσότερα στοιχεία προέρχονται από μελέτες που έγιναν με θαλασσινό νερό. Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι τα βακτήρια των φυσικών νερών μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην επιβίωση των ιών. Πόσο σημαντικό ρόλο παίζουν στο φυσικό νερό για την επιβίωση του ιού, όπου οι παράγοντες που εμπλέκονται στην επιβίωση μπορεί να είναι παρόντες σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις, είναι αβέβαιο. Για παράδειγμα, η διεξαγωγή πειραμάτων επιβίωσης σε δείγματα νερού τοποθετημένα σε δοχεία στο εργαστήριο μπορεί να επιτρέψει τη συσσώρευση οργανικών οξέων, με αποτέλεσμα την πτώση του pH που από μόνη της θα επηρεάσει την επιβίωση του ιού (Gerba, 2006).

Η επεξεργασία των φυσικών υδάτων για την εξάλειψη ή τη θανάτωση βακτηρίων ή μυκήτων γίνεται με αποστείρωση με ατμό υπό πίεση, φιλτράρισμα, προσθήκη αντιβιοτικών ή θεραπεία με υπεριώδες φως αυξάνει την επιβίωση των ιών (Melnick, Gerba et al., 1980). Η μεγαλύτερη αντική δράση στο θαλασσινό νερό σε σύγκριση με το γλυκό νερό φαίνεται να σχετίζεται με την παρουσία βακτηρίων ιθαγενών στο θαλασσινό νερό (Fujiooka et al., 1980). Μελέτες σε γλυκά νερά έχουν δείξει ότι οι εντεροϊοί αποικοδομούνται από την εγχώρια μικροχλωρίδα (Cliver and Hermann, 1972). Η μεγαλύτερη επιβίωση του εντερικού ιού στο νερό σε σύγκριση με άλλους ιούς μπορεί να οφείλεται στη μεγαλύτερη αντοχή τους στα πρωτεολυτικά ένζυμα

(Chang et al., 1971). Οι ιοί πολιομυελίτιδας και οι ιοί coxsackie έχουν αποδειχθεί ανθεκτικοί σε ένα ευρύ φάσμα φωτολυτικών ενζύμων (Cliver and Hermann, 1972). Ωστόσο, αυτό μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τον ορότυπο του εντεροϊού. Μπορούν επίσης να παραχθούν και άλλες ουσίες που αδρανοποιούν τους ιούς με διαδικασίες διαφορετικές από τις ενζυματικές. Η *Pseudomonas aeruginosa* παράγει ουσίες με μοριακό βάρος κάτω από 500, γεγονός που φαίνεται να έχει ως αποτέλεσμα την αποσυναρμολόγηση του ιού. Ουσίες αυτού του χαμηλού μοριακού βάρους δεν μπορούν να δράσουν ενζυματικά. Παράγονται επίσης ουσίες που αντιδρούν με το *viron* για να αποτρέψουν την προσρόφησή του στα κύτταρα ξενιστές (Fujsaki, 1978).

2. ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ

Η παρατήρηση όλων των παθογόνων μικροοργανισμών σε υδάτινα περιβάλλοντα απαιτεί μεγάλη προσπάθεια λόγω της μεγάλης ποικιλίας παθογόνων που υπάρχουν (βακτήρια, ιοί και πρωτόζωα), των μεθόδων που απαιτούνται για τη συγκέντρωση, ανάλυση και καλλιέργεια πολλών παθογόνων, καθώς και της δυσκολίας στην ταυτοποίηση, εκτός από την ύπαρξή τους σε χαμηλή συγκέντρωση στα υδάτινα περιβάλλοντα. Από την άλλη πλευρά, η ανίχνευση μόνο ενός παθογόνου μπορεί να δώσει μια ψευδή εντύπωση αν υπάρχει κάποιο άλλο παθογόνο που δεν έχει ελεγχθεί (Scott et al., 2005). Η επιλογή μικροβιολογικών δεικτών ποιότητας νερού είναι η διαδικασία επιλογής ενός είδους ή ομάδας μικροοργανισμών που μεταφέρονται στο νερό μέσω των κοπράνων μολυσμένων ατόμων, αλλά μπορούν να ανιχνευθούν πιο εύκολα από άλλους επιβλαβείς παθογόνους που θέτουν κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία (Berg, 1978 and Bosch, 2007). Οι τέλειοι δείκτες ανιχνεύονται όποτε είναι παρών ένας παθογόνος μικροοργανισμός (Payment et al., 2003). Η καταστροφή και η αφαίρεση δεικτών κατά του στοχευμένου παθογόνου παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιλογή οποιουδήποτε συστήματος δεικτών (Berg et al., 1978). Δεν υπάρχει μοναδικός δείκτης, αλλά μια ποικιλία δεικτών με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Η διαφορά μεταξύ αυτών των δεικτών ελέγχεται από ένα ευρύ φάσμα παραγόντων που επηρεάζουν την ικανότητά τους να είναι σταθεροί και να μεταφέρονται μέσω του περιβάλλοντος, όπως το μέγεθος, η αντοχή σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, η αφθονία στα κόπρανα και η φύση της υδρολογικής διαδικασίας (Anderson et al., 2005, Yates, 2007). Ο ιδανικός δείκτης θα πρέπει να περιλαμβάνει τα εξής χαρακτηριστικά: (i) να σχετίζεται πλήρως με την προέλευση του παθογόνου (ειδικός για ένα είδος ξενιστή) και να απουσιάζει σε μη μολυσμένες περιοχές, (ii) να ανιχνεύεται σε συγκέντρωση υψηλότερη από αυτή των παθογόνων, (iii) να είναι πολύ απλός για ανίχνευση και ποσοτικοποίηση (εύκολες, φθηνές, γρήγορες μέθοδοι), (iv) να μην αναπαράγεται εκτός του ξενιστή, (v) να σχετίζεται με ανθρώπινες ασθένειες, (vi) να είναι πολύ άφθονος στα κόπρανα των ξενιστών, (vii) να είναι πιο ανθεκτικός από τον παθογόνο σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (επιμονή, επιβίωση, τύχη, μεταφορά, θερμοκρασία, pH, αλατότητα, φως) και διαδικασίες απολύμανσης σε επεξεργασία

νερού και λυμάτων, (viii) να μην είναι παθογόνος (ασφαλής για αυτούς που παρακολουθούν) (Bosch, 1998, Walker et al., 2020).

2.1 ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ (FIB)

Οι FIB χρησιμοποιούνται για να προσδιορίσουν τη κοπρανώδη ρύπανση σε διάφορα υδάτινα περιβάλλοντα που σχετίζονται με άλλα παθογόνα εντερικά βακτήρια. Τα συνολικά κολοβακτηρίδια, ο κοπρανώδης στρεπτόκοκκος, τα κοπρανώδη, κολοβακτηρίδια και το *E. coli* χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της ρύπανσης, καθώς είναι εύκολοι και χαμηλού κόστους να ανιχνευτούν (Bitton, 2005). Η πρώτη φορά που ανιχνεύτηκαν τα κοπρανώδη κολοβακτηρίδια συνιστάται ως FIB από την EPA (Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών 1976) και χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση παθογόνων (Cabelli et al., 1983, Dufour, 1984). Η ομάδα των κολοβακτηρίων περιλαμβάνει το *E. coli* και το *E. aerogenes*, τα οποία βρίσκονται σε μολυσμένα νερά από τα κόπρανα μολυσμένων ατόμων. Το *E. coli* παρέχει έναν καλό δείκτη για τη κοπρανώδη ρύπανση (Messner et al., 2017). Η συσχέτιση μεταξύ των παθογόνων και των FIB μπορεί να αλλάξει σε ένα υδάτινο περιβάλλον λόγω μιας ευρείας γκάμας παραμέτρων, όπως η περιβαλλοντική επιβίωση των παθογόνων, η αραιώση και τα χαρακτηριστικά ροής του νερού (Devane et al., 2014).

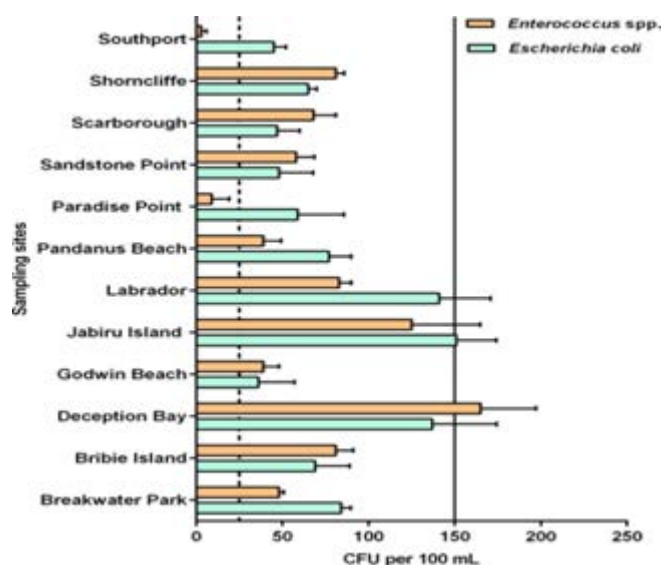
Σε παγκόσμιο επίπεδο, τα *E. coli* και οι εντερόκοκκοι είναι οι πιο κοινοί δείκτες κοπράνων που χρησιμοποιούνται. Σε σύγκριση με τους ιούς, είναι λιγότερο ανθεκτικοί σε περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η UV ακτινοβολία, η ηλιακή ακτινοβολία, το pH και η θερμοκρασία (Gerba, 1979, Wyer et al., 1995, Borchardt et al., 2004, Harwood et al., 2005). Εντερικοί ιοί έχουν ανιχνευθεί κατά τη διάρκεια των διαδικασιών επεξεργασίας πόσιμου νερού και λυμάτων, με υψηλότερους δείκτες εμφάνισης από τους βακτηριακούς δείκτες. Επιπλέον, είναι επίσης πιο ανθεκτικοί στο υδάτινο περιβάλλον (Kim et al., 2009). Πολλές περιβαλλοντικές μελέτες ανέφεραν ότι δεν υπάρχει σχέση μεταξύ των FIB και των ανθρώπινων εντερικών ιών (Baggi et al., 2001). Η αδυναμία των FIB σε πολλές περιπτώσεις να ανιχνεύσουν ιική μόλυνση σε δείγματα πόσιμου νερού και επεξεργασμένων λυμάτων υποδηλώνει ότι οι βακτηριακοί δείκτες μπορεί να αποτύχουν να εκφράσουν τη κοπρανώδη ρύπανση σε επεξεργασμένα λύματα και πόσιμο νερό. Μπορούμε να εξηγήσουμε αυτή τη δήλωση, καθώς οι ιοί, ειδικά οι εντερικοί ιοί, εκκρίνονται συνήθως στα κόπρανα ατόμων που είναι μολυσμένα ή φορείς, εκφράζοντας έτσι πάντα τη κοπρανώδη ρύπανση στα λύματα και, κατ' επέκταση, στο νερό. Συνεπώς, η αποτυχία των FIB να υποδείξουν την παρουσία εντερικών ιών σε πολλές περιπτώσεις μπορεί να υποδηλώνει αποτυχία στην έκφραση της κοπρανώδους ρύπανσης, η οποία είναι η αιτία της ιικής μόλυνσης των λυμάτων και του νερού. Η προσθήκη τουλάχιστον ενός ιογενούς δείκτη εκτός από τους βακτηριακούς δείκτες μπορεί να βοηθήσει στην παροχή πιο επαρκών

αποτελεσμάτων ποιότητας νερού και μεγαλύτερης εμπιστοσύνης στην ασφάλεια της ποιότητας του νερού (Toribio-Avedillo et al., 2021). Το πρότυπο ποιότητας πόσιμου νερού, το οποίο εκδόθηκε από τον WHO, περιλαμβάνει είκοσι οκτώ μικροβιολογικούς δείκτες για τον έλεγχο της απόδοσης διαδικασιών απολύμανσης και φυσικής απομάκρυνσης ιών. Περιέχει οκτώ είδη ιών, δώδεκα είδη βακτηρίων, έξι είδη πρωτόζωων και δύο είδη παρασίτων (WHO, 2011).

Είναι αποδεκτό ότι η συγκέντρωση FIB πάνω από το επίπεδο ανίχνευσης υποτίθεται ότι ανιχνεύει τη κοπρανώδη ρύπανση. Ωστόσο, η ανίχνευση των FIB για την αξιολόγηση της επίδρασης της παθογόνου ρύπανσης σε φυσικά ύδατα είναι δύσκολη, διότι αυτά τα FIB μπορεί να πολλαπλασιαστούν στο φυσικό υδάτινο περιβάλλον υπό κατάλληλες συνθήκες (Ishii et al., 2006, Vogel et al., 2007). Επιπλέον, δεν είναι εύκολο να διακριθεί η πηγή της προέλευσης της κοπρανώδους ρύπανσης ως από άτομα που έχουν μολυνθεί από ανθρώπους ή ζώα μπορεί να προσδιοριστεί χρησιμοποιώντας βακτηριακούς δείκτες. Επιπλέον, η συχνότητα ορισμένων παθογόνων, όπως οι αδενοϊοί, οι ανθρώπινοι εντεροϊοί, η Giardia, η Salmonella, το Cryptosporidium και οι coliphiles είναι πιο σταθεροί από αυτήν των FIB σε υδάτινα περιβάλλοντα. Έτσι, η ανίχνευση των FIB σε διάφορους τύπους υδάτων δεν υποδεικνύει την παρουσία παθογόνων (Bonadonna et al., 2002). Ένα από τα πιο σημαντικά καθήκοντα είναι να προσδιοριστούν οι δείκτες της πηγής κοπρανώδους ρύπανσης (Tran et al., 2015).

2.1.1 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΣΙΜΟΥ FIB ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΝΕΡΟΥ ΠΑΡΑΛΙΑΣ ΑΝΑΨΥΧΗΣ ΣΕ SEQ

Το μικροβιακό φορτίο των ειδών E. coli και Enterococcus σε δείγματα νερού παραλίας αναψυχής παρουσιάζονται στην εικόνα 15. Σε κάθε περιοχή εκτός από το Paradise Point και το Southport, οι συγκεντρώσεις του είδους Enterococcus υπερέβησαν τις κατευθυντήριες γραμμές του Συμβουλίου Περιβάλλοντος και Διατήρησης της Αυστραλίας και της Νέας Ζηλανδίας (ANZECC) (<35 CFU ανά 100 ml για πρωτογενές νερό αναψυχής). Η υψηλότερη συγκέντρωση (165 CFU ανά 100 ml) του Enterococcus spp. βρέθηκε στο Deception Bay. Για το E. coli, κάθε σημείο εκτός από το νησί Jabiru (151 CFU ανά 100 ml) είχε συγκέντρωση χαμηλότερη από τη συνιστώμενη κατευθυντήρια γραμμή ANZECC (<150 CFU ανά 100 ml). Χρησιμοποιώντας τη συσχέτιση κατάταξης του Spearman, προσδιορίστηκε ότι οι συγκεντρώσεις των ειδών E. coli και Enterococcus συσχετίστηκαν σημαντικά μεταξύ τους σε αυτές τις περιοχές ($P < 0,05$) (Ahmed et al., 2015).



Εικόνα 14. Συγκεντρώσεις *Escherichia coli* και *Enterococcus* spp. σε δείγματα νερού που συλλέχθηκαν από 12 παραλίες αναψυχής στο νοτιοανατολικό Κουίνσλαντ της Αυστραλίας. Η διακεκομμένη γραμμή αντιπροσωπεύει την κατευθυντήρια τιμή (35 CFU ανά 100 ml) για το *Enterococcus* spp. και η στερεά γραμμή αντιπροσωπεύει την ενδεικτική τιμή (150 CFU ανά 100 ml) για το *E. coli*. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.00028-17>

2.2 ΈΛΕΓΧΟΣ ΤΩΝ ΥΔΑΤΩΝ: ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΥΔΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΙΩΝ ΣΤΑ ΛΥΜΑΤΑ

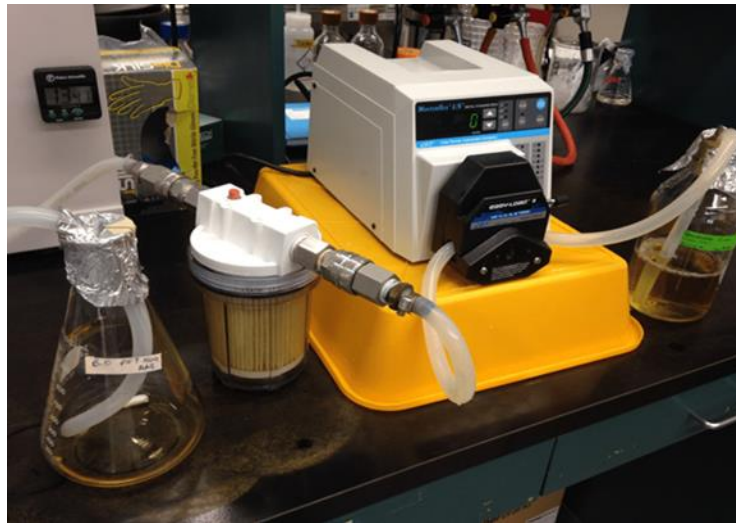
Η απομόνωση ιών από τα λύματα είναι μια ουσιαστική διαδικασία για τον έλεγχο της ποιότητας του νερού και την πρόληψη της εξάπλωσης ιογενών λοιμώξεων. Οι μέθοδοι απομόνωσης των ιών από τα λύματα μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τη διαθέσιμη τεχνολογία και τους ειδικούς στόχους της ανάλυσης. Τα κοινά βήματα των μεθόδων απομόνωσης ιών από τα λύματα περιλαμβάνουν τα ακόλουθα: (1) συλλογή αντιπροσωπευτικών δειγμάτων από την πηγή λυμάτων σε αποστειρωμένα δοχεία για συλλογή και τήρηση πρωτοκόλλων ασφαλείας, καθώς οι ιοί μπορεί να είναι μεταδοτικοί και να θέσουν σε κίνδυνο το προσωπικό του εργαστηρίου. (2) τη συγκέντρωση ιών, επειδή τα λύματα περιέχουν χαμηλή συγκέντρωση ιών· (3) εκχύλιση ιών με διάφορες μεθόδους, όπως καθίζηση με οργανικούς διαλύτες ή με μηχανική επαναιώρηση· (4) την ανάλυση ιών με τη χρήση ειδικών μεθόδων για τον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό συγκεκριμένων τύπων ιών [π.χ. αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) ή κύτταρα καλλιέργειας για να αποδειχθεί η μολυσματικότητα του ιού]· και (5) την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, η οποία μπορεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την παρουσία, τη συγκέντρωση και τους τύπους ιών στα λύματα. Αυτές οι πληροφορίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση των κινδύνων για την υγεία και τη λήψη κατάλληλων μέτρων για τη θεραπεία ή την εξάλειψη των ιών. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι ακριβείς μέθοδοι απομόνωσης

των ιών από τα λύματα μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με το εργαστήριο και τους συγκεκριμένους στόχους της ανάλυσης (Metcalf, 1961).

Η αποτελεσματικότητα της ανίχνευσης ιών εξαρτάται από παράγοντες όπως ο όγκος του δείγματος, η απόδοση της εκχύλισης νουκλεϊκού οξέος και η καθαρότητα. Τα δείγματα ακατέργαστων λυμάτων περιέχουν συνήθως υψηλότερα επίπεδα ιών από άλλα περιβαλλοντικά δείγματα λόγω της υψηλότερης θολερότητας, των αιωρούμενων στερεών και των συγκεντρώσεων οργανικής ύλης. Επιπλέον, τα εισρέοντα λύματα περιέχουν συχνά υψηλά επίπεδα χουμικών οξέων και βαρέων μετάλλων, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τις μεθόδους ανίχνευσης ιών. Οι ιλύες, όντας ετερογενείς μήτρες, δημιουργούν προκλήσεις καθώς οι ιοί τείνουν να προσροφώνται στην επιφάνεια των κροκίδων. Κατά συνέπεια, απαιτούνται στάδια συγκέντρωσης, συμπεριλαμβανομένων των μεθόδων πρωτογενούς και δευτερογενούς συγκέντρωσης. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι μέθοδοι μοριακής ανίχνευσης για ιούς δεν υποδεικνύουν τη μολυσματικότητά τους, αλλά ανιχνεύουν μόνο μοριακά θραύσματα (DNA ή RNA). Η αξιολόγηση της μολυσματικότητας απαιτεί τη διατήρηση της βιωσιμότητας του ιού καθ' όλη τη διάρκεια της δειγματοληψίας και της επεξεργασίας (Metcalf, 1961).

2.2.1 ΠΡΟΣΡΟΦΙΣΗ-ΕΚΛΟΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ (VIRADEL)

Η μέθοδος προσρόφησης-έκλουσης ιών (VIRADEL) (Εικόνα 16), περιλαμβάνει την αφαίρεση ιών από δείγματα νερού με προσρόφησης τους σε φίλτρο μεμβράνης και στη συνέχεια έκλουσή τους για ανάκτηση. Αρχικά αναπτύχθηκε από τον Metcalf το 1961 (Metcalf, et al., 1961) και βελτιώθηκε περαιτέρω από τους Wallis και Melnick το 1967 (Wallis, Melnick, et al., 1967), αυτή η μέθοδος βασίζεται στην ηλεκτροστατική έλξη μεταξύ των ιικών σωματιδίων και της επιφάνειας της μεμβράνης. Ενώ αρχικά σχεδιάστηκε για δείγματα νερού χαμηλής θολότητας (Farkas, et al., 2018), έχουν γίνει προσαρμογές για δείγματα υψηλής θολότητας, όπως τα εισρέοντα λύματα, τα οποία μπορεί να απαιτούν προδιήθηση. Το VIRADEL έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την επεξεργασία μεγάλων όγκων δειγμάτων που κυμαίνονται από 0,5 έως 400 L. από διάφορες πηγές όπως ποτάμια, νερό βρύσης, υπόγεια ύδατα και παράκτια ύδατα (Corpuz, et al., 2020).



Εικόνα 15. Συσκευή προσρόφησης και έκλουσης ιών (VIRADEL) που χρησιμοποιεί NanoCeram θετικά φορτισμένα πτυχωτά φίλτρα φυσιγγίων (Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/rus-adsorption-and-elution-VIRADEL-bench-top-apparatus-using-NanoCeram-R-positively-737_fig2_356411935 [accessed 4 Jun 2025])

Ωστόσο, η αύξηση του όγκου των δειγμάτων συσχετίζεται με την αύξηση της συγκέντρωσης αναστολέων PCR, απαιτώντας προσεκτική εξέταση του όγκου του δείγματος για να εξασφαλιστεί υψηλή περιεκτικότητα σε ιούς και χαμηλά επίπεδα αναστολέων. Παρά την αποτελεσματικότητά του, το VIRADEL έχει μειονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένης μιας διαδικασίας πολλαπλών σταδίων (προδιήθηση (ηλεκτροαρνητική ή ηλεκτροθετική διήθηση), προσρόφηση μεμβράνης και έκλουση), με αποτέλεσμα παρατεταμένο χρόνο επεξεργασίας και μειωμένες αποδόσεις ανάκτησης ιού (Corruz, et al., 2020). Η ανάκτηση των ιών επιτυγχάνεται συνήθως μέσω έκλουσης από τη μεμβράνη για περαιτέρω ανάλυση. Άλλα ρυθμιστικά διαλύματα έκλουσης όπως η γλυκίνη/NaOH, το πολυφωσφορικό νάτριο ή το αποκορυφωμένο γάλα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την ανάκτηση ιών από περιβαλλοντικά δείγματα (Corruz, et al., 2020). Μια εναλλακτική προσέγγιση, η ηλεκτροθετική διήθηση, χρησιμοποιεί μεμβράνες με θετικό φορτίο, εξαλείφοντας την ανάγκη ρύθμισης του pH του δείγματος για προσρόφηση ιών (Cashdollar, Wymer, et al., 2013). Μελέτες έχουν συγκρίνει την αποτελεσματικότητα διαφορετικών ηλεκτροθετικών φίλτρων στη συγκέντρωση ιών από λύματα εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων, με διαφορετικά ποσοστά επιτυχίας.

2.2.2 ΥΠΕΡΔΙΗΘΗΣΗ

Οι μέθοδοι υπερδιήθησης χρησιμοποιούν φίλτρα μεμβράνης (Εικόνα 17) με μεγέθη πόρων μικρότερα από τα ιικά σωματίδια, επιτρέποντας τον αποκλεισμό βάσει μεγέθους. Ένα μειονέκτημα της υπερδιήθησης είναι η πιθανότητα απόφραξης του

μικρού φίλτρου πόρων όταν πρόκειται για θολά δείγματα, αλλά η υπερδιήθηση εφαπτομενικής ροής μπορεί να λύσει αυτό το πρόβλημα επιτρέποντας στο νερό να ρέει παράλληλα με την επιφάνεια της μεμβράνης, καθιστώντας το κατάλληλο για δείγματα αυξημένης θολότητας (Farkas, et al., 2018).

Μέσω της μεθόδου φυγοκεντρικής υπερδιήθησης, ο όγκος δείγματος που χρησιμοποιείται μειώνεται σημαντικά με ρυθμό ανάκτησης συγκρίσιμο με το VIRADEL. Έτσι, από τα 10 L που χρησιμοποιήθηκαν στο VIRADEL, ο όγκος μειώθηκε στα 100 mL με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε από τους Qiu et al. (2016), η οποία χρησιμοποιεί ένα φυγοκεντρικό φίλτρο Centricon Plus-70 με μοριακό βάρος 30 kDa (Εικόνα 17) για τη συγκέντρωση ανθρώπινων εντερικών ιών από λύματα σε ένα μόνο βήμα (Qiu, et al., 2016), ή σε 10 mL δειγμάτων λυμάτων με τη μέθοδο των Sidhu et al., (2013) που χρησιμοποίησαν φυγοκεντρική υπερδιήθηση για τη συγκέντρωση ανθρώπινου αδενοϊού (Sidhu et al., 2013)



Εικόνα 16. Φυγοκεντρικό φίλτρο Centricon Plus-70 με μοριακό βάρος 30 kDa (Πηγή: <https://www.askul.co.jp/p/J002844/>)

Σε αντίθεση με τις μεθόδους ηλεκτροαρνητικής διήθησης, η φυγοκεντρική υπερδιήθηση δεν απαιτεί ρυθμίσεις του pH πριν ή μετά τη διήθηση, διατηρώντας τη σταθερότητα των ευαίσθητων στο pH ιών και προσφέρει πλεονεκτήματα όπως ευκολότερη συλλογή δειγμάτων, απλούστερη επεξεργασία, μικρότερους χρόνους διήθησης και δυνατότητα επεξεργασίας πολλαπλών δειγμάτων ταυτόχρονα (Corruz, et al., 2020).

2.2.3 ΑΜΕΣΗ ΚΑΤΑΒΥΘΙΣΗ ΜΕ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΖΗ

Η άμεση καθίζηση με πολυαιθυλενογλυκόλη είναι μια κοινή μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη συγκέντρωση ιών από περιβαλλοντικά δείγματα. Το PEG, ένα αδρανές και βιοσυμβατό πολυμερές, δρα απομονώνοντας μόρια νερού από το στρώμα

διάλυσης που περιβάλλει τα ιικά καψίδια, ενισχύοντας τις αλληλεπιδράσεις ιού-ιού και οδηγώντας σε καθίζηση (Corpuz et al., 2020). Τροποποιημένες μέθοδοι PEG (Πολυαιθυλενογλυκόλη), όπως το Pyro-PEG (τροποποιημένη μέθοδος), έχουν αναπτυχθεί για να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα ανίχνευσης ιών ενσωματώνοντας πρόσθετα βήματα όπως έκλυση με πυροφωσφορικό νάτριο και υπερήχηση (Strubbia et al. 2019). Ενώ η PEG είναι αποτελεσματική, μπορεί να προκαλέσει μη επιλεκτική καθίζηση, συμπεριλαμβανομένων διαφόρων παρεμβαλλόμενων πρωτεϊνών, εμποδίζοντας ενδεχομένως τις επακόλουθες μεθόδους ανίχνευσης με βάση την PCR (Masclaux et al., 1995).

2.2.4 Η ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΡΟΚΙΔΩΣΗΣ ΤΟΥ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Η τεχνική κροκίδωσης του αποκορυφωμένου γάλακτος περιλαμβάνει τρία βασικά στάδια: (i) την προσρόφιση ιών σε προκροκιδωτικές αποκορυφωμένες πρωτεΐνες γάλακτος, (ii) την καθίζηση κροκίδων φορτωμένων με ιούς και (iii) τη διάλυση ιζημάτων χρησιμοποιώντας φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα (Corpuz, et al., 2020). Η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία για την ανάκτηση αδενοϊού από ιλύ (Assis, et al., 2017), αδενοϊό (AdV 35), ροταϊό (RoV SA-11) (Gonzales-Gustavson, et al., 2017). Η τεχνική αυτή προσφέρει πλεονεκτήματα όπως ελάχιστες απαιτήσεις εξοπλισμού και μειωμένο αριθμό σταδίων επεξεργασίας, διευκολύνοντας την ταυτόχρονη συγκέντρωση πολυάριθμων δειγμάτων (Calgua, et al., 2008).



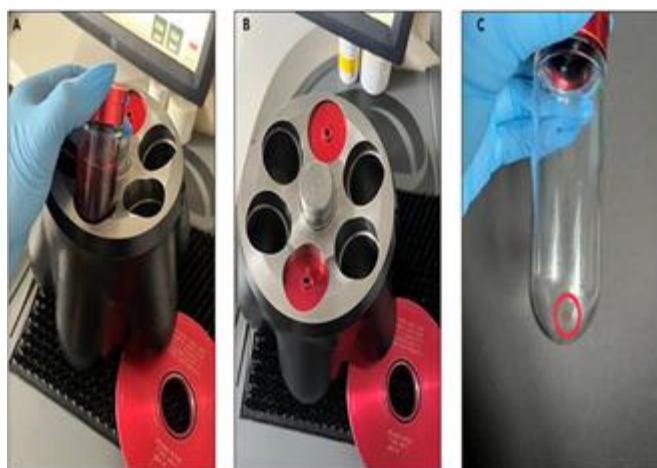
Εικόνα 17. Τεχνική κροκίδωσης του αποκορυφωμένου γάλακτος (Πηγή: <https://www.youtube.com/watch?v=qsWo8WdXw00>)

Μια άλλη μέθοδος (Εικόνα 18), η προεπεξεργασία των δειγμάτων ιλύος, είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική ανάκτηση των ιών λόγω της προσρόφησης τους σε κροκίδες ιλύος μέσω ηλεκτροστατικών και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Μια σύγκριση μεταξύ εκχυλίσματος βοείου κρέατος και έκλυσης γλυκίνης έδειξε ότι τα χαμηλότερα επίπεδα οργανικής ύλης με γλυκίνη οδήγησαν σε βελτιωμένη

αποτελεσματικότητα ενίσχυσης PCR (Rock, et al., 2010). Αυτές οι εξελίξεις υπογραμμίζουν τις συνεχιζόμενες προσπάθειες βελτιστοποίησης των μεθόδων προεπεξεργασίας για την αποτελεσματική ανάκτηση ιών από δείγματα υλούς. Παρά τις προσπάθειες, μέθοδοι όπως η υπερφυγοκέντρωση έδειξαν περιορισμένη ανάκτηση από τον ιό και μείωση της αναστολής της PCR.

2.2.5 ΥΠΕΡΦΥΓΟΚΕΝΤΡΩΣΗ

Η υπερφυγοκέντρωση όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 19, είναι μια εξελιγμένη και αποτελεσματική μέθοδος για τη συγκέντρωση ιών από διάφορα μέσα, συμπεριλαμβανομένων των λυμάτων. Αυτή η μέθοδος διαχωρίζει και συμπυκνώνει ιικά σωματίδια από ένα υγρό εναιώρημα εφαρμόζοντας πολύ υψηλές φυγόκεντρες δυνάμεις, στα δείγματα, προκαλώντας το διαχωρισμό των συστατικών ανάλογα με την πυκνότητά τους.



Εικόνα 18. Υπερφυγοκέντρωση (Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Example-of-ultracentrifugation-setups-and-outcome-A-Example-of-ultracentrifugation_fig1_379808889)

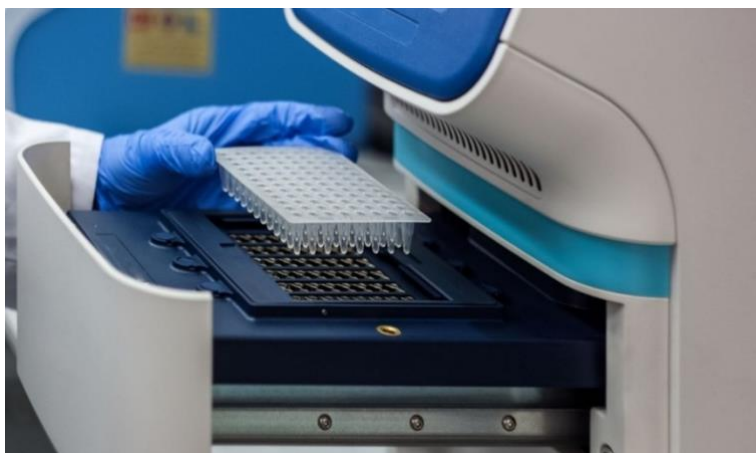
Πυκνά σωματίδια, όπως οι ιοί, ωθούνται στον πυθμένα του σωλήνα, ενώ λιγότερο πυκνά συστατικά παραμένουν αιωρούμενα στο υπερκείμενο υγρό. Μια άλλη μελέτη αποκάλυψε ότι η υπερφυγοκέντρωση μπορεί να θεωρηθεί κατάλληλη μέθοδος για τη συγκέντρωση ιών απευθείας από λύματα με ποσοστό ανάκτησης μεταξύ 66 και 72% (Prata, et al., 2012). Ωστόσο, στην περίπτωση αυτής της μεθόδου, η αποτελεσματικότητα των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ειδική πυκνότητα, τη μορφολογία και τα χαρακτηριστικά προσκόλλησης μεμβράνης κάθε ιού (Fumian, et al., 2010). Αν και περιλαμβάνει κόστος και λειτουργική πολυπλοκότητα, τα πλεονεκτήματά του όσον αφορά την καθαρότητα και την αποτελεσματικότητα το καθιστούν προτιμώμενη επιλογή στα εργαστήρια έρευνας και ανάλυσης ιών.

2.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΙΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ

Τα δείγματα υποβάλλονται σε διαφορετική επεξεργασία ανάλογα με τη μέθοδο ανίχνευσης ιών σε δείγματα λυμάτων.

2.3.1 PCR

Στις μεθόδους που βασίζονται στην PCR, η αλληλουχία-στόχος του γενετικού υλικού του ιού (RNA ή DNA) ενισχύεται και η ποιότητα και η καθαρότητα αυτών των βιομακρομορίων επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των μεθόδων ενίσχυσης και ποσοτικοποίησης. Στην περίπτωση των ιών RNA, απαιτείται ένα βήμα αντίστροφης μεταγραφάσης πριν από την ενίσχυση PCR. Αυτή η μέθοδος είναι εξαιρετικά χρήσιμη στην περίπτωση ιών που δεν μπορούν να καλλιεργηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες ή που είναι σχετικά μη κυτταροπαθογόνοι για καλλιεργημένα κύτταρα. Επιπλέον, με τη χρήση της τεχνικής PCR, μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την ανίχνευση του ιού. Για παράδειγμα, στην περίπτωση ανίχνευσης εντεροϊού στο νερό, ο χρόνος που απαιτείται για την ανάλυση κυμαίνεται μεταξύ 14 ημερών με τη χρήση κυτταροκαλλιέργειας και λιγότερο από μία ημέρα με χρήση PCR (Rodriguez, et al., 2009).



Εικόνα 19. Μέθοδος PCR (Πηγή: <https://ar.inspiredpencil.com/pictures-2023/pcr-instrument>)

Η PCR σε πραγματικό χρόνο (Εικόνα 20) (Real-Time PCR), μια παραλλαγή της συμβατικής PCR, επιτρέπει την αξιολόγηση των συγκεντρώσεων του ιικού γονιδιώματος και αντιπροσωπεύει μια σημαντική τεχνική για την ανίχνευση περιβαλλοντικών ιών. Η συμβατική PCR/RT-PCR και η ποσοτική PCR σε πραγματικό χρόνο (qPCR) χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση του ροταϊού A (RV-A), των ανθρώπινων αδενοϊών (AdV), των γονοομάδων I και II του νοροϊού (NoV GI/GII) και των ιών της ηπατίτιδας A (HAV) σε δείγματα λυμάτων από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων νοσοκομείων, επιβεβαιώνοντας την πιθανότητα μόλυνσης του

περιβάλλοντος από ιούς και πρότεινε την ανάγκη θέσπισης νέων προτύπων για πολιτικές διαχείρισης λυμάτων (Prado, et al., 2011).

2.3.2 DD PCR

Με την πρόοδο της τεχνολογίας, νέα εργαλεία που επιτρέπουν την ποσοτικοποίηση και την ακριβή ταυτοποίηση των ιών, ακόμη και σε δείγματα με χαμηλές συγκεντρώσεις ιών, όπως οι ψηφιακές πλατφόρμες (dPCR), έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται όλο και πιο συχνά. Χρησιμοποιούνται δύο κύριες τεχνικές διαμέρισης: με βάση σταγονίδια και με βάση τσιπ/μικρορευστά. Η ψηφιακή PCR σταγονιδίων (ddPCR) χρησιμοποιεί γαλάκτωμα νερού-ελαίου για τη δημιουργία μικροσταγονιδίων. Αυτή η τεχνική περιλαμβάνει χειροκίνητη ή αυτοματοποιημένη παραγωγή σταγονιδίων, ακολουθούμενη από τον θερμοκύκλο και την ανάγνωση των χωρισμάτων χρησιμοποιώντας ειδικά όργανα.. Η μέθοδος ψηφιακής PCR σταγονιδίων επέτρεψε την ακριβή ανίχνευση νοροϊών σε ένα πολύπλοκο περιβάλλον όπως τα λύματα, τα οποία είναι απαραίτητα για την παρακολούθηση του κινδύνου μόλυνσης από ιούς σε πηγές νερού (Ammerman, et al., 2024). Οι εντερικοί ιοί, όπως οι ροταϊοί και οι αδενοϊοί, που υπάρχουν στα λύματα έχουν ποσοτικοποιηθεί χρησιμοποιώντας dPCR, όπως ο ροταϊός και ο εντεροϊός σε ανεπεξέργαστα λύματα (Kiulia, et al., 2021).

Ως εκ τούτου, η dd PCR χρησιμοποιείται συχνά για την ανίχνευση ιών στα λύματα σε μελέτες παρακολούθησης της ποιότητας του νερού και επιδημιολογική έρευνα, καθώς είναι μια ταχεία και αξιόπιστη μέθοδος για την αξιολόγηση της παρουσίας παθογόνων ιών σε υδάτινα περιβάλλοντα, τον εντοπισμό πιθανών εστιών μόλυνσης και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των μέτρων επεξεργασίας νερού και αποχέτευσης. Οι πλατφόρμες dPCR προσφέρουν ευέλικτα και αποτελεσματικά εργαλεία για την ακριβή ποσοτικοποίηση γενετικών στόχων στο νερό, με κάθε πλατφόρμα να έχει πλεονεκτήματα και περιορισμούς. Από την άλλη, η χρήση PCR σταγονιδίων μπορεί να περιοριστεί από το κόστος και την ανάγκη εξειδικευμένου εξοπλισμού και τεχνικής εμπειρογνωμοσύνης. Ωστόσο, με την πρόοδο της τεχνολογίας και την ανάπτυξη πιο προσιτών κιτ και πρωτοκόλλων, αναμένεται ότι η PCR σταγονιδίων θα γίνει μια όλο και πιο διαδεδομένη και προσβάσιμη μέθοδος για την ανίχνευση ιών στα λύματα. Επί του παρόντος, λόγω της τεράστιας ποικιλομορφίας των μικροοργανισμών και των ποικίλων χαρακτηριστικών τους, καθώς και των περιορισμών που σχετίζονται με τις μεθόδους απομόνωσης και συγκέντρωσης, δεν υπάρχει ενιαία μέθοδος που να επιτρέπει την ταυτοποίηση όλων των μικροοργανισμών που υπάρχουν σε δείγματα νερού (Tiwari, et al., 2022).

2.3.3 ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ ΕΠΟΜΕΝΗΣ ΓΕΝΙΑΣ (NGS)

Το NGS έχει χρησιμοποιηθεί ως μια ισχυρή και αποτελεσματική προσέγγιση για την ανίχνευση και την παρακολούθηση παθογόνων στα λύματα, επιτρέποντας την ευρεία επιτήρηση της κοινότητας και τον εντοπισμό απειλών για τη δημόσια υγεία. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι τεχνολογιών αλληλουχίας: σύντομη ανάγνωση και μακρά ανάγνωση. Τα μειονεκτήματα της αλληλούχισης σύντομης ανάγνωσης σχετίζονται με το μήκος σχετικά μικρών θραυσμάτων, γεγονός που μπορεί να περιορίσει την ικανότητα ανίχνευσης μεγάλων γενετικών παραλλαγών ή πολύπλοκων δομών, καθώς και τη δυσκολία συναρμολόγησης του γονιδιώματος επειδή τα μικρά θραύσματα μπορούν να οδηγήσουν σε διφορούμενες επικαλύψεις (Williams, et al., 2024). Αντίθετα, η αλληλούχιση μακράς ανάγνωσης (π.χ. Pacific BioSciences (Menlo Park, CA, USA) και Oxford Nanopore (Οξφόρδη, Ηνωμένο Βασίλειο)) παράγει πολύ μεγαλύτερες αναγνώσεις, έως και 20 kilobases, χωρίς να απαιτείται συναρμολόγηση, οι οποίες είναι πολύτιμες για την κατανόηση του γενετικού πλαισίου και την ακριβή ανίχνευση της προέλευσης των γονιδίων. Ωστόσο, έχουν υψηλότερα ποσοστά σφάλματος και υψηλότερο αρχικό κόστος (Williams, et al., 2024). Σε σύγκριση με τις παραδοσιακές τεχνολογίες, το NGS επιτρέπει την ταχεία και αποτελεσματική αλληλούχιση μεγάλου αριθμού μορίων DNA ή RNA σε ένα μόνο πείραμα, με την υψηλή ευαισθησία να επιτρέπει την ανίχνευση μικρών ποσοτήτων γενετικού υλικού ή λεπτών γενετικών αλλαγών.

Από την άλλη, μια μελέτη που διερεύνησε την παρουσία, τον επιπολασμό και την ποικιλομορφία των ανθρώπινων αδενοϊών (AdVs) στα λύματα (22 μονάδες επεξεργασίας από 10 περιοχές της Ιταλίας), παρατηρώντας επιπολασμό αδενοϊών AdVs 60,3%, έδειξε ότι, μέσω της αλληλούχισης Sanger, εντοπίστηκαν μόνο τέσσερα είδη και τέσσερις διαφορετικοί τύποι [A (τύπος 12), B (τύπος 3), C (τύπος 5) και F (τύπος 41], και, από το NGS, ανιχνεύθηκαν επιπλέον 16 τύποι [τύποι 12 και 31 (είδος A), τύπος 3 (είδος B), τύποι 1, 2 και 5 (είδος C), τύποι 9, 17, 24, 26, 37, 38, 42, 44, 48 και 70 (είδος D), τύπος 4 (είδος E) και τύποι 40 και 41 (είδος F) (Iaconelli M. et al., 2017). Τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν την ποικίλη κυκλοφορία των αδενοϊών (AdVs) στα ακατέργαστα λύματα και επιβεβαιώνουν την αποτελεσματικότητα του NGS στην ανίχνευση λιγότερο διαδεδομένων τύπων.

Η στοχευμένη προσέγγιση αλληλούχισης amplicon είναι ένα χρυσό πρότυπο για τον εντοπισμό και την ανάλυση παραλλαγών. Ωστόσο, όταν εφαρμόζεται σε περιβαλλοντικά δείγματα όπως τα λύματα, παραμένει ασαφές πόσο ευαίσθητη είναι αυτή η μέθοδος για την ανίχνευση μεταλλάξεων που σχετίζονται με παραλλαγές σε περιβαλλοντικά δείγματα. Τα μειονεκτήματα της τεχνολογίας NGS σχετίζονται με το υψηλό αρχικό κόστος του απαιτούμενου εξοπλισμού και υποδομής πληροφορικής για την ανάλυση δεδομένων, με σύνθετη ανάλυση βιοπληροφορικής και σημαντικούς υπολογιστικούς πόρους που απαιτούνται για την ερμηνεία και εξαγωγή σχετικών πληροφοριών. Τεχνικά σφάλματα και μεροληψίες που σχετίζονται με τη διαδικασία

αλληλουχίας μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα και την ερμηνεία των δεδομένων, απαιτώντας περαιτέρω επικύρωση και διόρθωση (Iaconelli, et al., 2017).

2.3.4 ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ DNA, ΣΥΣΤΟΙΧΙΕΣ DNA, ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΩΜΑΤΑ ΓΟΝΙΔΙΩΝ Η ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΕ ΜΙΚΡΟΚΥΚΛΩΜΑ

Οι μικροσυστοιχίες DNA, οι συστοιχίες DNA, τα τσιπ γονιδίων ή το lab-on-chip, μια μικροσκοπική τεχνολογία όπου χιλιάδες ή δεκάδες χιλιάδες ανιχνευτές DNA ακινητοποιούνται σε ένα ειδικό τσιπ γυαλιού ή πυριτίου με επιφάνεια μόνο λίγων τετραγωνικών εκατοστών (Paruch, et al., 2022), προσφέρουν μια υψηλής απόδοσης και πολυπλεκτική προσέγγιση για την ανάλυση μικροβιακών κοινοτήτων σε δείγματα, επιτρέποντας την ταυτόχρονη ανάλυση πολλών δειγμάτων για την παρουσία συγκεκριμένων αλληλουχιών ιών ή την ανίχνευση πολυμικροβιακών παθογόνων από ένα μόνο δείγμα. Σύμφωνα με τον Dufva (2005), η γεωμετρία της συστοιχίας, η πυκνότητα των σημείων, τα χαρακτηριστικά των σημείων (μορφολογία, πυκνότητα ανιχνευτή και υβριδοποιημένη πυκνότητα), το υπόβαθρο, η ειδικότητα και η ευαισθησία είναι δείκτες που μετρούν την απόδοση της τεχνικής (Dufva, et al., 2005).

Είναι μια τεχνική με υψηλή εξειδίκευση, ικανή να παρέχει πολύτιμες γνώσεις σχετικά με τη μικροβιακή ποικιλομορφία και δυναμική. Υπάρχουν μερικές μελέτες (Wong, et al., 2013) που αναφέρουν την ανίχνευση ιών που υπάρχουν σε δείγματα λυμάτων χρησιμοποιώντας την τεχνική μικροσυστοιχιών, τις περισσότερες φορές σε συνδυασμό με άλλη τεχνική (π.χ. RT-PCR). Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι υπάρχουν πολλοί περιορισμοί που συναντώνται σχετικά με την επικύρωση των σημάτων, τους ανιχνευτές μη ειδικότητας, τη δυνατότητα διασταυρούμενου υβριδισμού με μη στοχευμένους ιούς, σφάλματα σάρωσης και σφάλματα στη δημιουργία κλώνων στα στάδια πριν από την εκτύπωση σε διαφάνειες (Wong, et al., 2013). Με την πάροδο του χρόνου, κάθε ένας από αυτούς τους περιορισμούς προκάλεσε τους ερευνητές να πραγματοποιήσουν νέες μελέτες για να βρουν λύσεις.

Όπως προτάθηκε από τους Wong et al. (2013), η τεχνική μικροσυστοιχιών, σε συνδυασμό με μεθόδους PCR, παραμένει κατάλληλη μέθοδος για τον έλεγχο των κοινοτικών λυμάτων για ευρύ αριθμό παθογόνων ιών (Wong, et al., 2013). Είναι μια τεχνική που δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην ανακάλυψη ενός νέου ιού, αλλά, χρησιμοποιώντας στοιχεία μικροσυστοιχιών που προέρχονται από εξαιρετικά διατηρημένες περιοχές εντός των οικογενειών των ιών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην ανακάλυψη των νέων παραλλαγών γνωστών ιών (Asmare and Erkihun, 2023). Όσον αφορά το κόστος και το πεδίο εφαρμογής, οι συστοιχίες μικροβιακής ανίχνευσης βρίσκονται μεταξύ πολυπλεκτικής PCR (χαμηλού κόστους, στενά εστιασμένης σε

έναν πολύ συγκεκριμένο στόχο) και αλληλούχισης υψηλής απόδοσης (Lemuth and Rupp, 2015).

Η ενσωμάτωση της ανάλυσης μικροσυστοιχιών με άλλες τεχνικές, όπως η PCR, η αλληλούχιση επόμενης γενιάς και οι παραδοσιακές μέθοδοι που βασίζονται σε καλλιέργειες, μπορεί να προσφέρει μια πιο ολοκληρωμένη κατανόηση των μικροβιακών κοινοτήτων στα λύματα.

2.3.6 ΧΡΩΣΗ ΠΙΚΩΝ ΝΟΥΚΛΕΙΝΙΚΩΝ ΟΞΕΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΘΟΡΟΧΡΩΜΑΤΩΝ

Για την ποσοτικοποίηση των ιών, χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία η χρώση νουκλεϊνικών οξέων με τη χρήση φθορίζοντων χρωστικών ουσιών αφού τα δείγματα νερού περάσουν μέσα από φίλτρο μεγέθους πόρων 0,22 μm ακολουθούμενη από απεικόνιση με μικροσκόπιο επιφθορισμού (Wu et al., 2022, Ottawa et al., 2007), έχοντας το πλεονέκτημα ότι τα χρωματισμένα σωματίδια ιού μπορούν να μετρηθούν ακόμη και σε χαμηλότερες μεγεθύνσεις, εξαλείφοντας έτσι την ανάγκη χρήσης οργάνων TEM (Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης) (Ortmann and Suttle, 2009) και, από την άλλη πλευρά, φαίνεται να επιτρέπει την ποσοτικοποίηση ιών που δεν μπορούν να καλλιεργηθούν στο εργαστήριο αλλά χωρίς διάκριση μεταξύ τους (Corruz, et al., 2020). Ο συνδυασμός της χρήσης ειδικών φθορίζοντων βαφών για νουκλεϊνικά οξέα και κυτταρομετρίας ροής εφαρμόστηκε επίσης για την ποσοτικοποίηση ιών σε δείγματα λυμάτων, η μέθοδος κατά την οποία χρωματιστά σωματίδια περνούν σε συνεχή ροή μέσω σχισμής λέιζερ και ο εκπεμπόμενος φθορισμός ποσοτικοποιείται σε συσχέτιση με την περιεκτικότητα του δείγματος σε DNA/RNA (Brown, et al., 2015).

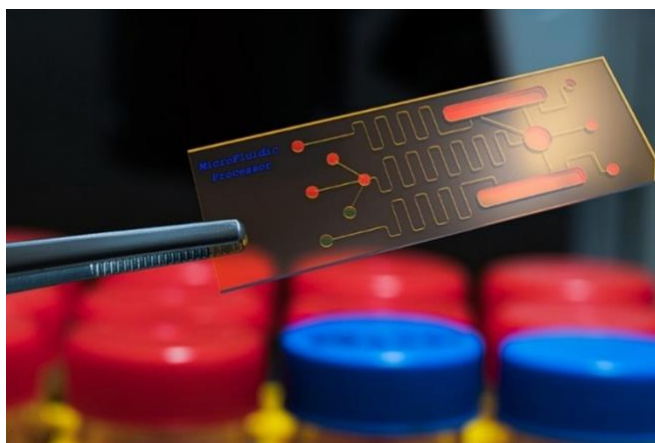
Οι προκλήσεις και οι περιορισμοί της χρήσης κυτταρομετρίας ροής για την ανίχνευση ιών σε φυσικά και κατασκευασμένα περιβάλλοντα σχετίζονται με τη σωστή σταθερότητα των ρυθμίσεων απόκτησης και ανάλογα με τους κατάλληλους ελέγχους για να αποδειχθεί ότι αυτά τα σήματα προέρχονται πράγματι από τον ιό και την ευαισθησία και την ακρίβεια των οργάνων (Dlusskaya, et al., 2021). Τα πλεονεκτήματα σχετίζονται με την υψηλή ταχύτητα ποσοτικοποίησης, αλλά, αν και φαίνεται αποτελεσματική η καταμέτρηση των ιών χρησιμοποιώντας αυτές τις μεθόδους, δεν μπορούν να αναγνωρίσουν τους ιούς ως τέτοιους.

2.3.7 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ

Ο ανοσοφθορισμός (IFA) και η ενζυμική ανοσοπροσροφητική δοκιμασία (ELISA) είναι δύο σημαντικές τεχνικές που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ιών σε δείγματα λυμάτων που βασίζονται στη δέσμευση του αντιγόνου στο ειδικό αντίσωμα του. Το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος εμφανίζεται ως φθορίζον σωματίδιο όταν το δευτερεύον αντίσωμα είναι φθορίζον επισημασμένο και παρατηρείται κάτω από ένα μικροσκόπιο φθορισμού (ανοσοφθορισμού) ή παράγεται μια αντίδραση χρώματος (ELISA). Ο ανοσοφθορισμός χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία για την ποσοτικοποίηση του ανθρώπινου αδενοϊού (AdV) και του ιού JC polyoma (JCPyV) σε μη επεξεργασμένα λύματα και έδειξε μια τάξη μεγέθους-υψηλότερη ευαισθησία από άλλες μεθόδους κυτταροκαλλιέργειας (Calgua, et al., 2011). Η ELISA χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση του ροταϊού A (RoV-A) σε δείγματα λυμάτων, επιτρέποντας τον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητας απομάκρυνσης του ιού από συστήματα επεξεργασίας αστικών και νοσοκομειακών λυμάτων (Kargar, et al., 2013). Οι δύο τεχνικές προσφέρουν ευαίσθητες μεθόδους για την παρακολούθηση των ιών στα λύματα, αλλά είναι αρκετά ακριβές, απαιτώντας πρωτογενή αντισώματα ειδικά για έναν ιό ενδιαφέροντος και δευτερογενή αντισώματα επισημασμένα φθορισμού ή με ένζυμο υπόστρωμα. Οι μέθοδοι δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παγκόσμια ταυτοποίηση των υπαρχόντων ιών στα λύματα λόγω του γεγονότος ότι είναι απαραίτητη η χρήση ειδικών ιικών αντισωμάτων, αλλά μπορεί να είναι απαραίτητες για την ειδική παρακολούθηση και αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των συστημάτων επεξεργασίας λυμάτων στην εξάλειψη των ιών.

2.3.8 ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΕΣ

Οι βιοαισθητήρες (Εικόνα 21) είναι αναλυτικές συσκευές που χρησιμοποιούν ένα βιολογικό συστατικό (όπως ένζυμα, αντισώματα κ.λπ.) για την ανίχνευση συγκεκριμένων μορίων-στόχων και το προκύπτον σήμα μετατρέπεται σε ποσοτικό ή ποιοτικό μέτρο της συγκέντρωσης αυτών των μορίων. Το στοιχείο βιοαναγνώρισης παίζει κρίσιμο ρόλο στην ανίχνευση ιών σε βιοαισθητήρες, με αντισώματα ή νουκλεϊνικά οξέα που χρησιμοποιούνται συνήθως. Οι προσεγγίσεις ανίχνευσης περιλαμβάνουν οπτικά και ηλεκτροχημικά σήματα, καθώς και συσκευές που βασίζονται σε χαρτί και νανοτεχνολογία (Azubuike, et al., 2022). Οι βιοαισθητήρες πρέπει να τηρούν τα κριτήρια REASSURED (συνδεσιμότητα σε πραγματικό χρόνο, ευκολία συλλογής δειγμάτων, προσιτό, ευαίσθητο, συγκεκριμένο, φιλικό προς το χρήστη, γρήγορο και στιβαρό, χωρίς εξοπλισμό ή απλό, φιλικό προς το περιβάλλον, παραδοτέο στον τελικό χρήστη) (Otoo and Schlappi, 2022).



Εικόνα 20. Βιοαισθητήρας (Πηγή: <https://www.thierry-corp.com/plasma-treatment-articles/best-way-to-address-bonding-challenges-in-microfluidic-devices>)

Οι βιοαισθητήρες μικρορευστών όπως απεικονίζεται στην (Εικόνα 20) με βάση το χαρτί, ενώ πληρούν ορισμένα από αυτά τα κριτήρια, έχουν σχεδιαστεί κυρίως για ανοσολογικές δοκιμασίες και όχι για ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων. Η αλλαγή της φυσικής υποστήριξης για τον έλεγχο του μεγέθους και του φορτίου των πόρων θα μπορούσε να ενισχύσει την ευαισθησία, ειδικά για την παρακολούθηση των λυμάτων (Azubuike, et al., 2022). Αξίζει να σημειωθούν πολλά πλεονεκτήματα: (α) οι βιοαισθητήρες μπορούν να ανιχνεύσουν ακόμη και μικρές συγκεντρώσεις ιών σε δείγματα λυμάτων λόγω της υψηλής ειδικότητας του βιολογικού συστατικού που χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των μορίων-στόχων. β) η ανίχνευση του ιού μπορεί να επιτευχθεί σε σύντομο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με άλλες μεθόδους ανίχνευσης, επιτρέποντας την ταχεία παρακολούθηση της ποιότητας των λυμάτων· γ) οι βιοαισθητήρες μπορούν να ενσωματωθούν σε αυτόματα συστήματα παρακολούθησης και ελέγχου της ποιότητας των λυμάτων, επιτρέποντας τη συλλογή και ερμηνεία δεδομένων σε πραγματικό χρόνο· και (δ) οι βιοαισθητήρες μπορούν να είναι φορητοί και μικροσκοπικοί και μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας στο πεδίο για ανάλυση ποιότητας λυμάτων χωρίς την ανάγκη επεξεργασίας δειγμάτων στο εργαστήριο. Παρ' όλα αυτά τα πλεονεκτήματα, η χρήση βιοαισθητήρων για την ανίχνευση ιών στα λύματα εξακολουθεί να παρουσιάζει ορισμένες προκλήσεις, ιδίως όσον αφορά το pH, τη συγκέντρωση αλάτων ή/και τις αλλαγές θερμοκρασίας στη σταθερότητα των αντισωμάτων (O'Kennedy et al., 2017), όπως η ανάγκη βελτιστοποίησης και επικύρωσης των συσκευών για διαφορετικούς τύπους ιών, καθώς και η ανάπτυξη τυποποιημένων μεθόδων για την αξιολόγηση της απόδοσης των βιοαισθητήρων σε πραγματικές συνθήκες πεδίου. Μια άλλη πρόκληση βασίζεται στις αλλαγές στους επιτόπους που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση λόγω αλλαγών στο ιικό γονιδίωμα (Benjamin and Perdue, 1996).

Η συνεχής πρόοδος στην τεχνολογία βιοαισθητήρων μπορεί να προσφέρει ελπιδοφόρες προοπτικές για τη βελτίωση της παρακολούθησης και της διαχείρισης της ποιότητας των λυμάτων. Οι βιοαισθητήρες θα πρέπει να ενσωματώνουν τις

τέσσερις πτυχές "M4": Αρθρωτότητα, πολυπλεξία, πολυλειτουργικότητα και σμίκρυνση. Η αρθρωτή δομή επιτρέπει την ευελιξία στην ανίχνευση διαφορετικών ικών στόχων, ενώ η πολυπλεξία επιτρέπει την ανίχνευση πολλαπλών στόχων ταυτόχρονα, συμπεριλαμβανομένων συγκεκριμένων παραλλαγών. Η πολυλειτουργικότητα διασφαλίζει ότι οι βιοαισθητήρες είναι ανθεκτικοί σε αναστολές ή παρεμβολές στα λύματα, διευκολύνοντας την άμεση ανίχνευση από ακατέργαστα δείγματα. Τέλος, η σμίκρυνση μειώνει το κόστος και επιτρέπει τη φορητότητα, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη σε συστήματα αποχέτευσης (Azubuike, et al., 2022).

3.2.9 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Η απομόνωση του ιού σε κυτταροκαλλιέργεια είναι μια ισχυρή τεχνική που χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση βιώσιμων ιών από δείγματα λυμάτων. Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή ότι οι ιοί μπορούν να αναπτυχθούν σε ευαίσθητες κυτταρικές σειρές στο εργαστήριο. Αντίθετα, η κυτταροπαθητική επίδραση, η οποία εμφανίζεται ως φθορά μιας μονοστιβάδας μολυσμένων κυττάρων και παρατηρείται με μικροσκοπία φωτός, χρησιμοποιείται για τη μέτρηση μολυσματικών ιών (Qiu et al., 2018). Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της χρήσης κυτταροκαλλιιεργειών σε επιδημιολογικές μελέτες είναι η ικανότητα απομόνωσης και χαρακτηρισμού μολυσματικών ικών σωματιδίων.

Ο σημαντικότερος περιορισμός αυτής της τεχνικής είναι ότι αρκετοί ιοί δεν αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργεια, ενώ άλλοι δεν παρουσιάζουν ορατές κυτταροπαθητικές επιδράσεις και, ως εκ τούτου, δεν ανιχνεύονται με συμβατικές μεθόδους κυτταροκαλλιέργειας. Μια λύση για αυτές τις δυσκολίες ήταν η ανάπτυξη μιας ολοκληρωμένης τεχνικής κυτταροκαλλιέργειας/αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Αυτή η μέθοδος εξασφαλίζει την επίτευξη αποτελεσμάτων εντός 4-5 ημερών από τη συλλογή δειγμάτων λυμάτων σε σύγκριση με τη συμβατική μέθοδο, η οποία χρειάζεται περισσότερες από 18 ημέρες για να δώσει τα ίδια αποτελέσματα (Reynolds, 2004). Επιπλέον, τα κύτταρα μπορούν να μολυνθούν από διάφορους τύπους ιών που προκαλούν παρόμοιες κυτταροπαθητικές επιδράσεις, καθιστώντας δύσκολο τον εντοπισμό των συγκεκριμένων ιών που είναι υπεύθυνοι για τον παρατηρούμενο. Ένας επιπλέον παράγοντας που επηρεάζει τα αποτελέσματα είναι ο ανταγωνισμός μεταξύ δύο ιών ή ικών παραλλαγών για την ίδια κυτταροκαλλιέργεια. Αυτός ο ανταγωνισμός οδηγεί στην επιλογή μιας μοναδικής, κυρίαρχης παραλλαγής, εξαλείφοντας τις άλλες παραλλαγές (Bessonov, et al., 2022). Από την άλλη, πολλοί ιοί μπορούν να βρεθούν στα λύματα ταυτόχρονα και, όταν καλλιεργούνται, μπορεί να

εμφανιστεί μια κυτταροπαθητική επίδραση που προκαλείται από έναν άλλο ιό, ενώ άλλοι ιοί θα παράγουν κυτταροπαθητικά αποτελέσματα αργότερα. Αυτοί οι ιοί θα χαθούν κατά τη διάρκεια των *in vitro* διόδων. Για να ξεπεραστούν ορισμένοι από αυτούς τους περιορισμούς, οι μέθοδοι κυτταροκαλλιέργειας έχουν συνδυαστεί με άλλες διαγνωστικές τεχνικές για να διασφαλιστεί η ακρίβεια και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται.

Η απομόνωση των ιών σε κυτταροκαλλιέργειες είναι απαραίτητη για τη μελέτη της ιογενούς μολυσματικότητας και, παρόλο που συνεπάγεται ορισμένες τεχνικές και υλικοτεχνικές προκλήσεις, η μέθοδος αυτή παραμένει στυλοβάτης στην ιολογική έρευνα και στη διάγνωση μολυσματικών ασθενειών (Bessonov, et al., 2022).

2.5 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΚΑΙ ΟΡΘΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ

Τα λύματα υποβάλλονται σε επεξεργασία σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων για την απομάκρυνση ρύπων, συμπεριλαμβανομένων παθογόνων μικροοργανισμών. Η χημική και βιολογική επεξεργασία μπορεί να βοηθήσει στην απομάκρυνση ή την αδρανοποίηση των ιών από τα λύματα, ώστε να μπορούν να απελευθερωθούν στο περιβάλλον σε ασφαλέστερη και λιγότερο ρυπογόνο κατάσταση, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο εξάπλωσης ασθενειών. Διάφορες μέθοδοι και τεχνολογίες χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία λυμάτων και η επιλογή της διαδικασίας εξαρτάται από τα ειδικά χαρακτηριστικά των λυμάτων, το επιθυμητό επίπεδο ποιότητας του επεξεργασμένου νερού και τους διαθέσιμους πόρους.

Η διαχείριση των λυμάτων, μια κρίσιμη διαδικασία για τη δημόσια υγεία, συνεπάγεται καθαρισμό σε σταθμούς επεξεργασίας λυμάτων (Mousazadeh et al., 2022) και γενικά αποτελείται από διάφορα στάδια: προκαταρκτική επεξεργασία ή προεπεξεργασία (φυσική και μηχανική) · πρωτοβάθμια επεξεργασία (φυσικοχημική και χημική) · δευτεροβάθμια επεξεργασία ή καθαρισμός (χημικός και βιολογικός) · τριτοβάθμια ή τελική επεξεργασία (φυσική και χημική) · και επεξεργασία της σχηματιζόμενης ιλύος (εποπτευόμενη απόθεση, ανακύκλωση ή αποτέφρωση) (Crini and Lichtfouse, 2019). Τα στάδια αυτά συνδυάζονται ανάλογα με την ποιότητα των εισροών λυμάτων και τη λειτουργία του βαθμού επεξεργασίας που απαιτείται για την τήρηση του προτύπου αποδοχής (Mohan, et al., 2021). Ως εκ τούτου, ανάλογα με την προβλεπόμενη χρήση των λυμάτων, για άρδευση, αναψυχή ή απόρριψη σε ποτάμια, μπορεί να εφαρμοστεί τριτοβάθμια επεξεργασία για την εξάλειψη των παθογόνων μικροοργανισμών (Mousazadeh , et al., 2022).

Οι λίμνες επεξεργασίας λυμάτων αποτελούν το συνηθέστερο σύστημα πρωτοβάθμιας επεξεργασίας λυμάτων (Lesimple, et al., 2020). Η απομάκρυνση του ιού σε λίμνες επεξεργασίας λυμάτων καθορίζεται από το συνδυασμό διαφορετικών παραγόντων όπως η καθίζηση και η αδρανοποίηση με τη μεσολάβηση του ηλιακού φωτός, καθώς και από την αλληλεπίδραση του ιού με διαφορετικά σωματίδια ή με άλλους μικροοργανισμούς (Lesimple, et al., 2020). Η διαδικασία καθίζησης θεωρείται ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης σωματιδίων σε λίμνες επεξεργασίας λυμάτων. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα ιικά σωματίδια μπορούν να απομακρυνθούν με προσρόφιση σε αιωρούμενα στερεά και καθίζηση μαζί με αυτά (Bhatt, et al., 2020). Ωστόσο, η καθίζηση δεν απομακρύνει εντελώς τους ιούς από τα λύματα (Bhatt, et al., 2020).

Μια άλλη κοινώς χρησιμοποιούμενη επεξεργασία λυμάτων είναι η διήθηση άμμου, η οποία εξασφαλίζει την απομάκρυνση σωματιδίων και, συνεπώς, τα σωματίδια του ιού που προσροφώνται στην επιφάνειά τους. Ωστόσο, δεν είναι πολύ αποτελεσματικά στην απομάκρυνση ιών (Lesimple, et al., 2020). Η ικανότητα απομάκρυνσής τους μπορεί να βελτιωθεί με την προσθήκη διαφορετικών προσθέτων. Οι Samineni et al. (2019) ανέπτυξαν φίλτρα άμμου λειτουργικά με το εκχύλισμα νερού των σπόρων *Moringa oleifera* που πέτυχαν απόδοση 7 βακτηριοφάγους $\log_{10}$ MS2, υποκατάστατο για την απομάκρυνση του νοροϊού και του ροταϊού, καθώς και μια διαδικασία αναγέννησης για αυτό χρησιμοποιώντας αλατούχο νερό (Samineni et al., 2019). Τα φίλτρα άμμου-ανθρακίτη αναφέρθηκε ότι απομακρύνουν εν μέρει τους νοροϊούς κατά την τρίτοβάθμια επεξεργασία των λυμάτων (Prado, et al., 2019).

Η διήθηση με μεμβράνη είναι μια διαδικασία επεξεργασίας που εξασφαλίζει την απολύμανση των λυμάτων χρησιμοποιώντας διαφορετικούς τύπους φίλτρων. Ανάλογα με το μέγεθος των πόρων του φίλτρου, η διήθηση μεμβράνης ταξινομείται ως μικροδιήθηση, υπερδιήθηση, νανοδιήθηση και αντίστροφη όσμωση (Lesimple, et al., 2020). Η αντίστροφη όσμωση χρησιμοποιείται συνήθως για την ολοκλήρωση της απομάκρυνσης των ρύπων, αλλά μπορεί επίσης να μειώσει τους ιούς στα λύματα. Προκειμένου να αφαιρεθούν τα μαλακτικά που μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία αντίστροφης όσμωσης, συμπεριλαμβανομένης της απομάκρυνσης του ιού, συνήθως συνδυάζεται με υπερδιήθηση ως σύστημα προεπεξεργασίας (Lesimple, et al., 2020). Επιπλέον, η αντίστροφη όσμωση σε συνδυασμό με τον βιοαντιδραστήρα μεμβράνης αναφέρθηκε ότι είναι αποτελεσματική στην απομάκρυνση του νοροϊού (Prado, et al., 2019). Η υπερδιήθηση είναι μια χαμηλού κόστους εναλλακτική λύση στην αντίστροφη όσμωση (Eloffy, et al., 2022) και θεωρείται ως ο πιο αποτελεσματικός τρόπος απομάκρυνσης του ιού (Mousazadeh, et al., 2022). Οι Lee et al. (2017) αξιολόγησαν την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού πήξης-καθίζησης-υπερδιήθησης ως σύστημα τρίτοβάθμιας επεξεργασίας λυμάτων κατά την απομάκρυνση του ιού και διαπίστωσαν ότι συσχετίζεται αρνητικά με τη συγκέντρωση διαλυμένης οργανικής ύλης και μπορεί να βελτιωθεί με βελτιστοποίηση του pH για

την αύξηση της αποτελεσματικότητας της πήξης (Lee, et al., 2017). Επιπλέον, προκειμένου να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα της διήθησης, αυτή η διαδικασία μπορεί να πραγματοποιηθεί συνδυάζοντας διήθηση μεμβράνης χαμηλής πίεσης ακολουθούμενη από διήθηση μεμβράνης υψηλής πίεσης (Collivignarelli, et al 2018). Ωστόσο, η διήθηση και η καθίζηση είναι δύο διαδικασίες που επιτρέπουν τον διαχωρισμό των ιών χωρίς την αδρανοποίησή τους, γεγονός που οδηγεί στην ανάγκη περαιτέρω αδρανοποίησης των ιικών σωματιδίων στην προκύπτουσα ιλύ (Bhatt, et al., 2020).

Οι φωτοκαταλυτικοί μεμβρανικοί αντιδραστήρες (PMR) αντιπροσωπεύουν ένα συνδυασμό διήθησης μεμβράνης με φωτοκατάλυση (Bhatt, et al., 2020). Είναι μια πολλά υποσχόμενη λύση για την απομάκρυνση ιών και άλλων παθογόνων από το νερό (Zheng, et al., 2015). Οι Guo et al. (2015) επεξεργάστηκαν ένα PMR με βάση το TiO₂ σωληνωτά κεραμικά μικροφίλτρα σε συνδυασμό με απολύμανση UV και αξιολόγησαν την αποτελεσματικότητά τους σε εργαστηριακές συνθήκες στην απομάκρυνση του ιού από νερό τροφοδοσίας υψηλής θολότητας, χρησιμοποιώντας βιώσιμο βακτηριοφάγο P22 ως υποκατάστατο. Η αποτελεσματικότητα του δοκιμασμένου συστήματος ήταν καλύτερη από την αυτόνομη μικροδιήθηση, την αυτόνομη απολύμανση UV και τη μικροδιήθηση – UV με μη φωτοκαταλυτική μεμβράνη. Επιπλέον, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η απομάκρυνση και αδρανοποίηση του ιού θα μπορούσε να βελτιωθεί από το μέγεθος των πόρων της μεμβράνης, τον σχεδιασμό της φωτοκαταλυτικής επικάλυψης και τον έλεγχο της ροής UV που εφαρμόζεται στο ρεύμα διαπερατότητας (Guo, et al., 2015).

Η απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία (UV) καταστρέφει φωτοχημικά το DNA/RNA του μικροοργανισμού (Barrett, et al., 2016). Συνήθως, χρειάζεται σύντομο χρόνο επαφής και δεν σχηματίζει υποπροϊόντα (Bhatt, et al., 2020). Η απόδοση της υπεριώδους ακτινοβολίας μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία αιωρούμενων στερεών στα δευτερογενή επεξεργασμένα λύματα. Έτσι, συνήθως συνδυάζεται με ένα σύστημα φιλτραρίσματος (Barrett, et al., 2016).

Οι ιοί μπορούν επίσης να απομακρυνθούν με απολύμανση με διάφορες χημικές ουσίες όπως χλώριο, διοξείδιο του χλωρίου, όζον, χλωραμίνη, απορρυπαντικά και αλκοόλες (Zhang, et al., 2016), που δρουν οξειδώνοντας το πρωτεϊνικό στρώμα ή τη δομή του DNA/RNA (Bonanno Ferraro, et al., 2022). Παρ'όλα αυτά, η χημική επεξεργασία των λυμάτων οδηγεί στο σχηματισμό υπολειμμάτων που πρέπει να απομακρυνθούν με πρόσθετες επεξεργασίες. Επιπλέον, ορισμένοι ιοί είναι ανθεκτικοί στη διαδικασία απολύμανσης (Bhatt, et al., 2020).

Η χλωρίωση είναι μία από τις πιο εφαρμοσμένες χημικές επεξεργασίες των λυμάτων, είναι επίσης η πιο επιτυχημένη μέθοδος αδρανοποίησης των ιικών σωματιδίων. Χρησιμοποιείται συχνά ως στρατηγική απολύμανσης για νοσοκομειακά λύματα

(Zhang, et al., 2020). Η χλωρίωση πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας χλωραμίνες, υποχλωριώδες νάτριο, διοξείδιο του χλωρίου, υποχλωριώδες ασβέστιο και χλωροϊσοκυανουρικά που παράγουν ιόντα υποχλωριώδους (ClO^-), ένας από τους ισχυρότερους οξειδωτικούς παράγοντες, και το υποχλωριώδες οξύ (HOCl), ένας μικροβιοκτόνος παράγοντας (Lesimple, et al., 2020). Η αποτελεσματικότητά του επηρεάζεται από τον χρόνο επαφής, τη δόση, το pH, τη θερμοκρασία (Mohan, et al., 2021) και τη σύνθεση των λυμάτων (παρουσία οργανικών υλικών, αμμωνίας, νιτρικών κ.λπ.) (Mohan, et al., 2022). Επιπλέον, αυτός ο τύπος επεξεργασίας χρειάζεται πρόσθετα βήματα αποχλωρίωσης και αδρανοποίησης τοξικών υποπροϊόντων στα λύματα (Bonanno Ferraro, et al., 2022).

Ο μηχανισμός οζονισμού βασίζεται στο σχηματισμό ριζών υδροξυλίου που παρουσιάζουν υψηλή δραστηριότητα (Mohan, et al., 2021). Το όζον αδρανοποιεί τους ιούς καταστρέφοντας τις ιικές πρωτεΐνες, όντας αποτελεσματικό τόσο έναντι των ιών με περίβλημα όσο και έναντι των ιών χωρίς περίβλημα (Teymoorian, et al., 2021). Ο οζονισμός αποδείχθηκε αποτελεσματικός στην απομάκρυνση διαφόρων ιών (Yao, et al., 2020). Οι Sigmon et al. (2015) διαπίστωσαν ότι δεν απαιτείται περισσότερο από 1,0 mg min/L για την αποτελεσματική αδρανοποίηση διαφορετικών παθογόνων από τα λύματα (Sigmon, et al., 2015). Αναφέρθηκε ότι το όζον χρησιμοποιείται για την απολύμανση λυμάτων που χρησιμοποιούνται για άρδευση καλλιεργειών ή απορρίπτονται στα επιφανειακά ύδατα (Lesimple, et al., 2020).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου θεωρείται μη τοξική επεξεργασία, καθώς τα υποπροϊόντα του δεν θεωρούνται απειλή για την υγεία. Ως απολυμαντικός παράγοντας, παράγει ρίζες υδροξυλίου που βλάπτουν διαφορετικά ιικά συστατικά. Παρ' όλα αυτά, η δραστηριότητά του είναι μέτρια και απαιτούνται υψηλές ποσότητες για απολύμανση. Ως εκ τούτου, προκειμένου να αυξηθεί η παραγωγή ριζών υδροξυλίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου συνδυάζεται συχνά με επεξεργασίες UV ή όζοντος (Bonanno Ferraro, et al., 2022). Μια εναλλακτική επιλογή είναι ένα υπερφορμικό οξύ, ένας συνδυασμός υπεροξειδίου του υδρογόνου και μυρμηκικού οξέος, που είναι επίσης αποτελεσματικός στην αδρανοποίηση του ιού, ανώτερος από τη χλωρίωση με γρήγορη αποσύνθεση και χωρίς τοξικά υποπροϊόντα (Luukkonen, et al., 2015).

Οι πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της νανοτεχνολογίας προσφέρουν τη δυνατότητα χρήσης διαφόρων νανοϋλικών (π.χ. νανοβιοπροσροφητικά, νανοκαταλύτες, βιοενεργά νανოსωματίδια, νανοδομημένες καταλυτικές μεμβράνες, νανοβιοαντιδραστήρες και διήθηση ενισχυμένη με νανοςωματίδια) στην επεξεργασία λυμάτων, προκειμένου να εξαλειφθούν υδατογενείς παθογόνοι οργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των ιών (Eloffy, et al., 2022). Για παράδειγμα, τα νανομέταλλα αδρανοποιούν τους ιούς δημιουργώντας ROS που διασπούν το DNA ή το RNA τους, ενώ τα νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα χαρακτηρίζονται από μεγάλη επιφάνεια και υψηλή αναλογία

επιφάνειας προς όγκο που τους εξασφαλίζουν υψηλή ικανότητα προσρόφησης και διευκολύνουν την απομάκρυνση του ιού (Ojha, 2020). Διαφορετικά συστήματα όπως νανοςύνθετα συστήματα φίλτρων (Kim, et al., 2016), Cu₂ Νανοσωλήνες άνθρακα πολλαπλών τοιχωμάτων με επικάλυψη O (Domagala, et al., 2020) και μεμβράνες (Nemeth, et al., 2019) αναπτύχθηκαν και αποδείχθηκαν αποτελεσματικές στην απομάκρυνση ιών.

Οι βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας λυμάτων εφαρμόζονται ως δευτερογενείς επεξεργασίες. Βασίζονται στη δραστηριότητα των μικροοργανισμών για την οξείδωση οργανικών υλικών από λύματα και περιλαμβάνουν συμβατική ενεργοποιημένη ιλύ, αεριζόμενες λιμνοθάλασσες, δεξαμενές οξείδωσης, βιοαντιδραστήρες μεμβράνης κ.λπ. (Mohamed, 2015) . Η πιο χρησιμοποιούμενη μέθοδος, η διαδικασία ενεργοποιημένης ιλύος, αναφέρεται ότι απομακρύνει μερικώς τους αδενοϊούς, τους ιούς polyoma, τους ροταϊούς (Prado, et al., 2019) και τους νοροϊούς (Prado, et al., 2019).

Οι βιοαντιδραστήρες μεμβράνης (MBR) αντιπροσωπεύουν ενεργοποιημένη βιολογική επεξεργασία ιλύος σε συνδυασμό με διήθηση μεμβράνης (Bonanno Ferraro, et al., 2022). Υπό βέλτιστες συνθήκες, αποδείχθηκαν αποτελεσματικοί στην απομάκρυνση ανθρώπινων αδενοϊών (Xagorarakis, et al., 2014) και νοροϊών (Xagorarakis, et al., 2014) λόγω της προσκόλλησης του ιού σε στερεά σωματίδια και της κατακράτησης από τη μεμβράνη ή από το στρώμα κέικ, καθώς και αδρανοποίησης του ιού από θήρευση ή ενζυματική διάσπαση (Chaudhry, et al., 2015).

Τα μικροφύκη και τα μακροφύκη χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία λυμάτων ως μέρος φωτοβιοαντιδραστήρων, αντιδραστήρων βιοφίλμ, MBR και δεξαμενών οξείδωσης (Bhatt, et al., 2020). Η αδρανοποίηση του ιού σε συστήματα επεξεργασίας λυμάτων με βάση τα φύκια βασίζεται σε μηχανισμούς όπως η αδρανοποίηση μέσω του ηλιακού φωτός, η μετατόπιση του pH και η θήρευση, καθώς και στην προσκόλληση του ιού στη βιομάζα και την καθίζηση (Bhatt A. et al., 2020) . Σύμφωνα με τους Delanka-Pedige, Cheng et al. (2020), η απόδοση του συστήματος επεξεργασίας λυμάτων με άλγη στη μείωση των εντεροϊών και του Norovirus GI ήταν συγκρίσιμη με αυτή του συμβατικού συστήματος επεξεργασίας λυμάτων με χλωρίωση (Delanka-Pedige, et al., 2020).

Ανεξάρτητα από την τεχνολογική εξέλιξη, οι τρέχουσες στρατηγικές για την επεξεργασία λυμάτων πάσχουν από διάφορους περιορισμούς, όπως ο σχηματισμός υψηλής ρύπανσης από υποπροϊόντα, το υψηλό λειτουργικό κόστος, η ανάγκη για χημικά πρόσθετα και η παραγωγή ροής αποβλήτων (Mousazadeh, et al., 2022). Επιπλέον, οι ιοί μπορεί να παραμείνουν στα λύματα, καθώς η απομάκρυνσή τους από τα λύματα επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως η δομή τους (Bhatt, et al., 2020) και η προσροφητική συμπεριφορά (Miura et al., 2015), το pH των λυμάτων (Lee, et al., 2017) και η θερμοκρασία και η σύνθεσή τους (Revilla Pacheco et al.,

2021). Ως εκ τούτου, υπάρχει ανάγκη για εναλλακτικές μεθόδους απολύμανσης για την αποτελεσματική εξάλειψη των παθογόνων από τα λύματα.

3. ΉΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΤΩΝ ΟΙΚΙΑΚΩΝ ΛΥΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Πάνω από 100 τύποι ανθρώπινων εντερικών ιών είναι γνωστό ότι είναι κοινοί ρυπαντές του νερού (Melnick et al., 1984) και με τις νέες και αναδυόμενες στελέχους, ο αριθμός τους αυξάνεται. Λόγω της ποικιλίας των ανθρώπινων παθογόνων ιών στο περιβάλλον, συχνά χρησιμοποιούνται υποκατάστατα και δείκτες για να διερευνηθεί η τύχη και η μεταφορά των παθογόνων στελεχών στο περιβάλλον. Ένας δείκτης μπορεί να είναι κατάλληλος για μια ευρεία εκτίμηση της αποδοτικότητας της επεξεργασίας λυμάτων και πόσιμου νερού, καθώς και για τη μελέτη της αφθονίας, της επιμονής, της προσρόφησης και της μεταφοράς παθογόνων στο υδάτινο περιβάλλον. Επιπλέον, η ποσοτική παρακολούθηση των ιογενών δεικτών μπορεί να παρέχει χρήσιμα δεδομένα για την ανίχνευση μικροβιακών πηγών, τη μοντελοποίηση μεταφοράς και την εκτίμηση κινδύνου. Παραδοσιακά, τα βακτήρια δεικτών κοπράνων (FIB, συμπεριλαμβανομένων των κολοβακτηρίων, *Escherichia coli*, *Enterococcus* και *Streptococcus* spp.) έχουν χρησιμοποιηθεί για να προσδιορίσουν τα επίπεδα κοπρανώδους ρύπανσης στο νερό. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι τα βακτήρια είναι σημαντικά λιγότερο ανθεκτικά στην επεξεργασία λυμάτων και λιγότερο επίμονα στο περιβάλλον από τους εντερικούς ιούς (Fong et al., 2005). Κατά συνέπεια, οι FIB είναι κακοί δείκτες κινδύνου ιογενούς λοίμωξης και αυτό υποδηλώνει ότι τα τρέχοντα προγράμματα παρακολούθησης της ποιότητας του νερού που βασίζονται αποκλειστικά σε FIB είναι ανεπαρκή.

Ιδανικά, ένας καλός ιογενής δείκτης για την εκτίμηση της μόλυνσης από λύματα θα πρέπει να έχει παρόμοια απενεργοποίηση και συγκράτηση με τους στόχους παθογόνους οργανισμούς και θα πρέπει να είναι παρών στα λύματα και σε περιβάλλοντα μολυσμένα από λύματα καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Αυτό θα επέτρεπε τη συνεχή παρακολούθηση και θα ενημέρωνε σχετικά με το επίπεδο μόλυνσης και την πιθανότητα παρουσίας παθογόνων. Ορισμένοι εντερικοί ιοί που σχετίζονται με τα λύματα έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες, ωστόσο, όλοι αυτοί οι ιοί πληρούν αυτές τις απαιτήσεις.

Επιπλέον, ορισμένοι εντερικοί ιοί (π.χ. αστροϊός, ροταϊός, και ιός ηπατίτιδας Ε Πίνακας 4) μπορεί να είναι ζωνοόσοι, επομένως η παρουσία τους στο περιβάλλον μπορεί να είναι αποτέλεσμα π.χ. γεωργικών δραστηριοτήτων αντί για ανθρώπινα απόβλητα. Οι ιοί ηπατίτιδας Α και Ε είναι άφθονοι σε λιγότερο οικονομικά

ανεπτυγμένες χώρες, ωστόσο, είναι υπεύθυνοι μόνο για σποραδικές επιδημίες σε πιο ανεπτυγμένες περιοχές (Bosch et al., 2016). Επιπλέον, οι εντεροϊοί, οι νοροϊοί και οι σαποϊοί παρουσιάζουν σαφή εποχικότητα με κορυφώσεις είτε το καλοκαίρι (εντεροϊοί) είτε το χειμώνα (νοροϊοί και σαποϊοί) σε εύκρατα κλίματα. Επομένως, αυτοί οι ιοί δεν βρίσκονται στα λύματα και στο μολυσμένο περιβάλλον σε όλες τις εποχές του χρόνου (Farkas et al., 2018a). Οι ανθρώπινοι ιοί AdVs, PyVs και AιVs βρίσκονται συχνά στα λύματα και σε μολυσμένα περιβάλλοντα χωρίς καμία διακριτή εποχικότητα, γι' αυτό και έχει προταθεί η χρησιμότητά τους ως αποτελεσματικοί δείκτες κοπράνων (Kitajima and Gerba, 2015).

Οι βακτηριοφάγοι που μολύνουν τα βακτήρια που σχετίζονται με το ανθρώπινο έντερο είναι επίσης κοινοί στα λύματα. Οι σωματικοί κολοβακτηριοφάγοι (βακτηριοφάγοι που μολύνουν το *E. coli*) και οι F-ειδικοί RNA βακτηριοφάγοι χρησιμοποιούνται συνήθως για την εκτίμηση της ρύπανσης των λυμάτων. Ωστόσο, καθώς δεν είναι όλα τα στελέχη που σχετίζονται αποκλειστικά με τα ανθρώπινα βακτήρια, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή. Οι βακτηριοφάγοι που μολύνουν τα *Bacteroides* spp. έχουν επίσης τη δυνατότητα να υποδεικνύουν ρύπανση των λυμάτων.

Ενδιαφέρον είναι ότι ένας ιός φυτών, ο ιός ήπιας κηλίδωσης πιπεριάς (PMMoV οικογένεια *Virgaviridae*), έχει επίσης αποδειχθεί ότι σχετίζεται με τα ανθρώπινα λύματα και έχει βρεθεί σε μολυσμένα επιφανειακά και υπόγεια ύδατα, καθώς και σε πόσιμο νερό (Symonds et al., 2018). Η κύρια πηγή του PMMoV στα ανθρώπινα απόβλητα προέρχεται από την κατανάλωση πιπεριών (*Capsicum* spp.) και τροφίμων που περιέχουν πιπεριές και είναι μολυσμένα με τον ιό (Zhang et al., 2005). Το PMMoV προτείνεται ως ένας χρήσιμος δείκτης για τη μόλυνση των λυμάτων (Kitajima et al., 2018b, Symonds et al., 2018), ωστόσο, το σχήμα και το μέγεθός του διαφέρει από άλλους παθογόνους ιούς και έτσι η τύχη και η συμπεριφορά του στο περιβάλλον μπορεί να είναι διαφορετική.

Πίνακας 4. Ανθρώπινοι παθογόνοι ιοί που ανιχνεύθηκαν στο υδάτινο περιβάλλον (<https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-014-9340-8>)

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΓΕΝΟΣ	ΤΥΠΟΣ ΙΟΥ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΘ ΗΚΕ ΣΤΟ ΝΕΡΟ	ΜΕΓΕΘΟΣ	ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ	ΠΗΓΗ
ΑΔΕΝΟΙΟΣ	ΜΑΣΤΑΔΕΝΟΙΟΙ	ΜΑΣΤΑΔΕΝ ΟΙΟΣ Α-Γ	70-90nm	ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚ Η ΛΟΙΜΩΣΗ ΩΤΙΤΙΔΑ ΕΠΙΠΕΦΥΚΙΤΙΔ Α	King et al. (2009)

ΑΝΕΛΛΟΙΟΙ	ΑΛΦΑΤΟΡΚΕΥΙΡ ΟΙΟΣ	ΤΟΡΚΕΤΕΝΟ ΙΟΣ	30nm	ΑΓΝΩΣΤΗΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ	King et al. (2009)
ΑΣΤΡΟΙΟΣ	ΜΑΜΑΣΤΡΟΙΟΣ	ΑΣΤΡΟΙΟΣ	28-30nm	ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ	De Benedictis et al. (2011);
ΚΑΛΙΚΗΟΣ	ΝΟΡΟΙΟΣ ΣΑΠΟΙΟΣ	ΝΟΡΟΙΟΣ G1,GII,ΣΑΠΟΙ ΟΣ G1,GII	35-40nm	ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ	King et al. (2009)
ΚΙΡΚΟΙΟΣ	ΚΙΡΚΟΙΟΣ	ΚΥΚΛΟΙΟΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΕΤΑΙ ΜΕ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ	15-25nm	ΑΓΝΩΣΤΟ	Breitbart et al. (2017)
ΗΠΕΙΟΣ	ΟΡΘΟΗΠΕΥΙΡΟΙ ΟΣ	ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Ε ΤΥΠΟΣ 1-4	27-34nm	ΟΞΕΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ	Purdy et al. (2017)
ΠΑΠΙΛΟΜΑΙΟ Σ	ΔΙΑΦΟΡΟΙ ΙΟΙ	ΔΙΑΦΟΡΟΙ ΘΗΛΩΜΑΤΙ ΚΟΙ ΙΟΙ	55nm	ΜΟΛΥΝΣΗ ΣΤΟ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	Van Doorslaer et al. (2018)
ΠΑΡΒΟΙΟΣ	ΜΠΟΚΟΙΟΣ	ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ Σ ΜΠΟΚΟΙΟΣ ΤΥΠΟΥ 1-4	22nm	ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚ Η ΝΟΣΟΣ	King et al. (2009)
ΠΙΚΟΡΝΑΙΟΣ	ΚΟΜΠΟΥΙΟΣ ΚΟΣΑΙΟΣ ΕΝΤΕΡΟΙΟΣ	ΑΙΚΗΙΟΣ Α-Β ΚΟΣΑΙΟΣ Α ΚΟΞΑΚΙ Β ΕΝΤΕΡΟΙΟΣ Α-Δ ΠΟΛΙΟΙΟΣ 1- 3	30-32nm	ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ	Zell et al.(2017)
ΠΟΛΥΟΜΑΙΟΣ	ΗΠΑΤΟΙΟΣ ΑΛΦΑ- ΠΟΛΥΟΜΟΙΟΣ ΒΗΤΑ- ΠΟΛΥΟΜΟΙΟΣ	ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Α ΠΟΛΥΟΙΟΣ MERKEL ΠΟΛΥΟΙΟΣ ΒΚ ΠΟΛΥΟΙΟΣ JC	40-45nm	ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚ Η ΛΟΙΜΩΞΗ, ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΗ, ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΛΟΙΜΩΞΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ	Moens et al.(2017)
ΡΕΟΙΟΣ	ΡΕΟΙΟΣ	ΡΟΤΑΙΟΣ Α	60-80nm	ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙ ΔΑ	Cook et al. (2004) King et al. (2009)

Ο βέλτιστος ιικός δείκτης πρέπει να έχει παρόμοια σταθερότητα και υψηλότερη αντοχή σε περιβαλλοντικές συνθήκες ή διαδικασίες επεξεργασίας από τον παθογόνο οργανισμό, και πρέπει να ανιχνεύεται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους σε μολυσμένα υδάτινα περιβάλλοντα. Παρακάτω απεικονίζεται χάρτης (Εικόνα 21) με τις δειγματοληψίες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ορισμένες περιοχές.



Εικόνα 21. Χάρτης που απεικονίζει τα σημεία δειγματοληψίας όπου έχουν ανιχνευθεί ιικοί δείκτες σε ανεπεξέργαστα λύματα (κόκκινο), επεξεργασμένα λύματα (κίτρινο), επιφανειακά γλυκά ύδατα (μπλε), υπόγεια ύδατα (πράσινο), θαλασσίνο νερό (μωβ) (<https://j.mp/2VdQVpY>).

Επιπλέον, κατά τη διάρκεια μιας ιικής επιδημίας ή πανδημίας, ο ιικός δείκτης μπορεί να προσδιορίσει την αναλογία των μολυσμένων ατόμων. Οι αδενοϊοί χρησιμοποιούνται ως ιικοί δείκτες για τη μόλυνση προκειμένου να παρακολουθείται η ποιότητα του νερού λόγω της μεγαλύτερης επιμονής τους στο περιβάλλον σε σύγκριση με τους FIB (Simmons et al., 2011).

Ο νοροϊός μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως ιικός δείκτης λόγω της υψηλότερης αντοχής του στις διαδικασίες επεξεργασίας (Duiser et al., 2004), της υψηλής επιμονής του στο περιβάλλον, της μακροχρόνιας σταθερότητας και της χαμηλής δόσης μόλυνσης (Teunis et al., 2008). Ο NoV έχει επίσης αναφερθεί σε νερά για κατανάλωση (Maunula et al., 2004) και σε πολλές επιδημίες μολυσμένου πόσιμου νερού (Maunula et al., 2005, Hewitt et al., 2007). Οι ιοί δείκτες για την ποιότητα του νερού μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο τύπους: Ιικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται ως δείκτες ρύπανσης κοπράνων και ιογενείς δείκτες που χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα της ιογενούς ρύπανσης.

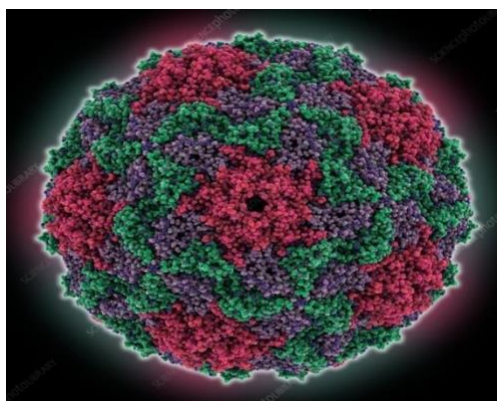
3.1 ΠΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

Οι εντερικοί ιοί θεωρούνται υποσχόμενος δείκτης κοπρανώδους ρύπανσης λόγω της ειδικότητάς τους για τους ξενιστές και της επικράτησής τους στα κόπρανα των ξενιστών (Sidhu and Toze, 2009). Επιπλέον, μπορούν να διακρίνουν μεταξύ πηγών κοπρανώδους ρύπανσης από ανθρώπους ή ζώα, αναγνωρίζοντας τη σειρά κοινών γονιδίων στο γένος (Fong et al., 2005, Ahmed et al., 2010). Ο ανθρώπινος αδενοϊός και οι ιοί της πολιομυελίτιδας (PV) έχουν προταθεί ως δείκτες κοπρανώδους ρύπανσης και στόχοι για την παρακολούθηση μικροβιακών πηγών, βασισμένοι στην κατανομή τους στον πληθυσμό, την υψηλή αντοχή τους σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και την ειδικότητα για τον ανθρώπινο ξενιστή (Pina et al., 1998). Οι De Giglio et al. (2017) ανίχνευαν εντεροϊό, ροταϊό και νοροϊό (δείκτες κοπρανώδους ρύπανσης) σε υπόγεια ύδατα. Από την άλλη πλευρά, οι FIBs ήταν φτωχοί δείκτες της παρουσίας ιών στα υπόγεια ύδατα. Πολλές μελέτες πρότειναν τους coliphage ιούς ως κατάλληλο δείκτη κοπρανώδους ρύπανσης σε διάφορους τύπους νερού, σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά τους, την εμφάνιση, την τύχη και τη επιδημιολογική τους σχέση με το περιβάλλον (Blanch et al., 2006, Lee et al., 2011).

Οι F-specific RNA coliphage ιοί (F - RNA) προτάθηκαν ως δείκτες κοπρανώδους ρύπανσης στα υπόγεια και επιφανειακά ύδατα. Επιπλέον, με τη χρήση των γονότυπων τους, είναι εύκολο να προσδιοριστεί η πηγή της κοπρανώδους ρύπανσης (Havelaar et al., 1993). Εκτός από τα αποτελέσματα ορισμένων μελετών, οι υποομάδες I και IV του F - RNA σχετίζονται συνήθως με τα ζωικά κόπρανα, ενώ οι υποομάδες II και III συσχετίζονται με την ανθρώπινη κοπρανώδη ρύπανση (Ibarluzea et al., 2007, Lee et al., 2011).

3.2 ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΩΣ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΤΑ ΙΟΓΕΝΟΥΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ

Ο ιός Aichi (AiV1) (Εικ.23) έχει βρεθεί σε υψηλότερη συγκέντρωση στα λύματα και το περιβάλλον, σε σύγκριση με τους ιούς Norovirus (NoVs), λόγω της μορφολογικής και επικρατούσας ομοιότητας (Hata et al., 2013, Kitajima et al., 2014). Ο AiV μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ικός δείκτης για την ανίχνευση ιικής μόλυνσης σε διάφορους τύπους υδάτων (Kitajima and Gerba, 2015). Οι Garcia et al. (2022) πρότειναν ότι οι αδενοϊοί, ο ιός του ήπιου μωσαϊκού πιπεριάς (PMMoV) και ο crAssphage μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως ιοί δείκτες.



Εικόνα 22. Ανθρώπινος ιός Aichi ο οποίος προκαλεί γαστρεντερίτιδα στους ανθρώπους (Πηγή: <https://www.sciencephoto.com/media/847806/view/human-aichi-virus-a-capsid>)

Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι πολλές ομάδες κολοφαγών έχουν ομοιότητες στη δομή, τη μορφολογία, το μέγεθος, την ανθεκτικότητα και την επιβίωση στο περιβάλλον σε σχέση με τους εντερικούς ιούς όταν συγκρίνονται με τους FIB (Cole et al., 2003, Love et al., 2008). Η αφαίρεση των σωματικών coliphage εξακολουθεί να θεωρείται ως αντανάκλαση της εξάλειψης των ανθρώπινων ιών, ενώ η χρήση των F-ειδικών coliphage ως δείκτης ανθρώπινων ιών είναι περιορισμένη (Ottoson et al., 2006). Οι Havelaar et al. (1993) πρότειναν ότι οι F-RNA coliphage είναι κατάλληλος μικροβιακός δείκτης για την ανθρώπινη ιογενή ρύπανση στο υδάτινο περιβάλλον. Ο PMMoV προτάθηκε ως ιογενής δείκτης που ανιχνεύθηκε σε υψηλές συγκεντρώσεις για την αξιολόγηση της ανίχνευσης εντερικών ιών σε διάφορους τύπους νερού (Hamza et al., 2011).

3.3 ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΙΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Οι ιοί είναι απόλυτα εξαρτώμενοι από τα κύτταρα-ξενιστές για την αναπαραγωγή τους, επομένως τα ιογενή σωματίδια μπορεί να επιβιώσουν ή να υποστούν ζημιά όταν είναι σε αναστολή στο περιβάλλον. Αυτό σημαίνει ότι η ιογενής συγκέντρωση θα είναι η ίδια ή μειωμένη (Pinon and Vialette, 2018). Η επίδραση αυτών των παραγόντων αλλάζει ανάλογα με τον τύπο του περιβάλλοντος (Cook et al., 2004). Οι εντερικοί ιοί στο έδαφος μπορούν να επιβιώσουν για περισσότερες από 100 ημέρες σε θερμοκρασίες 20 έως 30°C, έως 120 ημέρες σε γλυκό νερό και λύματα, και έως 130 ημέρες σε θαλασσινό νερό (Wetz et al., 2004). Ο Kocwa-Haluch et al., (2001) έδειξε ότι με ένα ευρύ φάσμα pH (3 έως 10) και χαμηλές θερμοκρασίες, οι εντερικοί ιοί μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ο ροταϊός είναι ένας από τους πιο ανθεκτικούς ιούς σε υδάτινα περιβάλλοντα. Μπορεί να επιβιώσει για 16 ημέρες, χρησιμοποιώντας κυτταρικές τεχνικές για την ανίχνευση του ιού σε μη μολυσμένο νερό λίμνης (Pancorbo et al., 1987). Οι Espinosa et al. (2008) ανέφεραν ότι η επιβίωση του ροταϊού με τη χρήση ποσοτικής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε δείγματα επιφανειακού και υπόγειου νερού μπορεί να φτάσει σε μείωση 4-log₁₀ και 3-log₁₀,

αντίστοιχα, σε περιόδους που κυμαίνονται από 150 έως 180 ημέρες. Πολλές περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η θερμοκρασία, το ηλιακό φως και η αλμυρότητα, έχουν αντίκτυπο στην επιβίωση των ιών στο περιβάλλον (Rashed et al., 2022).

3.3.1 ΠΟΙΟΙ ΙΟΙ ΕΧΟΥΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΕΙ ΩΣ ΔΕΙΚΤΕΣ

Οι περισσότερες χώρες σε όλο τον κόσμο βασίζονται κυρίως σε βακτηριακούς δείκτες για την παρακολούθηση τόσο του ψυχαγωγικού όσο και του πόσιμου νερού. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος (EPA) άρχισε να μετρά τα συνολικά κολοβακτηρίδια και τα κολοβακτηρίδια κοπράνων ως δείκτες ποιότητας νερού το 1976 και τώρα έχει επικεντρωθεί στη μέτρηση βακτηρίων δεικτών κοπράνων (FIB) όπως το *E. coli* για γλυκά νερά και εντερόκοκκοι για θαλάσσια και αλμυρά νερά αναψυχής για την αξιολόγηση της μόλυνσης και του κινδύνου των υδάτων (Dulfour Alfred and Ballentine, 1986). Στην Κίνα, ο συνολικός αριθμός βακτηρίων και τα ολικά κολοβακτηρίδια έχουν επιλεγεί ως δείκτες βακτηριακού χαρακτήρα για την παρακολούθηση των επιφανειακών υδάτων. Ωστόσο, οι δείκτες βακτηρίων δεν μπορούν πάντα να είναι ένα αξιόπιστο σύστημα δεικτών για την παρακολούθηση της ποιότητας του νερού, καθώς ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένα ύδατα πληρούσαν τα πρότυπα βακτηρίων, αλλά εξακολουθούσε να ανιχνεύεται μικρός αριθμός παθογόνων ιών, με αποτέλεσμα ασθένειες να μεταδίδονται από το νερό (Noble, et al., 2015). Το πρόσφατο ενδιαφέρον επικεντρώνεται στη χρήση ανθρώπινων εντεροϊών ως δυνητικού συστήματος δεικτών για την παρακολούθηση της ποιότητας των υδάτων και αυτό το σύστημα δεικτών έχει ήδη χρησιμοποιηθεί ως τακτικός δείκτης για την παρακολούθηση των υδάτων στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης από τη δεκαετία του 1980 (Lucena, et al., 1994) .

Σε σύγκριση με τα βακτήρια, ο HEV έχει αρκετά ειδικά χαρακτηριστικά κατάλληλα για να ληφθούν υπόψη για την παρακολούθηση της ποιότητας του νερού: Το πρώτο είναι ότι η δόση των ανθρώπινων εντερικών ιών για την πρόκληση ασθένειας είναι πολύ χαμηλότερη από αυτή των βακτηρίων, σε ορισμένες περιπτώσεις, μόνο μία μολυσματική ιογενής μονάδα θα μπορούσε να προκαλέσει ασθένεια στον άνθρωπο. Μια αξιολόγηση κινδύνου που πραγματοποιήθηκε το 1993 έδειξε ότι ο κίνδυνος ασθένειας ήταν πολύ μικρότερος για τα βακτήρια από τους ιούς όταν εκτίθεται ο ίδιος αριθμός παθογόνων (Haas, et al., 1993). Δεύτερον, τα HEV είναι πιο σταθερά και ανθεκτικά από τα βακτήρια στο περιβάλλον, στα ύδατα και στα λύματα. Είναι γνωστό ότι οι εντερικοί ιοί θα μπορούσαν να επιβιώσουν περισσότερο σε ορισμένες ακραίες καταστάσεις, όπως η τιμή pH που κυμαίνεται από 3 έως 10 και η χαμηλή θερμοκρασία (Aslan, et al., 2011). Λόγω του μικρού μεγέθους τους, οι ιοί μπορεί να διαφύγουν από ορισμένες διεργασίες επεξεργασίας λυμάτων, όπως η καθίζηση, η επεξεργασία ενεργού άνθρακα και οι λίμνες οξείδωσης (Okoh and Igbinos, 2010). Αποδείχθηκε επίσης ότι οι σταθερές δομές DNA ή RNA του HEV θα μπορούσαν να τους οδηγήσουν να επιβιώσουν από την επεξεργασία με υπεριώδη ακτινοβολία (Haas, et al., 1993).

Ως εκ τούτου, οι HEV έχουν δείξει μεγάλη υπόσχεση να θεωρηθούν ως δυνητικός δείκτης για την παρακολούθηση της ποιότητας του νερού που σχετίζεται με τη μόλυνση από κόπρανα. Μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις της χρήσης HEV για την

παρακολούθηση της ποιότητας του νερού είναι ότι οι ιοί εμφανίζονται συχνά σε χαμηλά επίπεδα στο υδάτινο περιβάλλον και, ως εκ τούτου, απαιτεί εξαιρετικά ευαίσθητη συγκέντρωση και βελτιστοποιημένες εργαστηριακές μεθόδους για την αποτελεσματική ανίχνευση ανθρώπινων παθογόνων στα ύδατα (Tong, et al., 2011). Πρόσφατα, έχει καθιερωθεί εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος για αυξημένη συγκέντρωση και ανίχνευση εντερικών ιών στο πανεπιστήμιο της Χαβάης και αυτά τα νεοσύστατα πρωτόκολλα έχουν εφαρμοστεί για την επιτυχή ανίχνευση του HEV από διαφορετικά περιβαλλοντικά ύδατα (Tong, et al., 2011).

Τα ευρέως χρησιμοποιούμενα βακτήρια-δείκτες κοπράνων (FIB) δεν μιμούνται τη δυναμική των ιογενών παθογόνων, όπως η μεταφορά και η αποσύνθεση στο υδάτινο περιβάλλον και η επεξεργασία λυμάτων. (Kitajima et al., 2014). Ως εκ τούτου, η άμεση παρακολούθηση των ιών είναι απαραίτητη για τον έλεγχο τέτοιων παθογόνων ιών σε συστήματα αναψυχής και πόσιμου νερού. Ο φάγος διασταυρούμενης συναρμολόγησης (CrAssphage) ανακαλύφθηκε πρόσφατα μέσω ιικής μεταγονιδιωματικής ανάλυσης, η οποία επέτρεψε την ανακάλυψη μη καλλιεργήσιμων ιών. Οι Stachler και Bibby (2014) διαπίστωσαν ότι το crAssphage είναι εξαιρετικά άφθονο στα λύματα και δεν ανιχνεύεται στα περισσότερα περιττώματα ζώων. Έτσι, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το crAssphage μπορεί να εφαρμοστεί ως δείκτης παρακολούθησης μικροβιακής πηγής (MST) για την παρακολούθηση της ρύπανσης των λυμάτων σε περιβαλλοντικά υδάτινα σώματα. Πρόσφατες μελέτες έχουν επίσης αναφέρει την υψηλή αφθονία του crAssphage και ισχυρότερους συσχετισμούς του crAssphage με εντερικούς ιούς από άλλους δείκτες κοπράνων (Ballesté et al., 2019). Το πρόσφατα ανακαλυφθέν crAssphage έχει μεγάλες δυνατότητες για ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στην παρακολούθηση των ιών κοπράνων, σε περιβαλλοντικά ύδατα και επεξεργασία λυμάτων, γεγονός που μπορεί να παρακάμψει τις ελλείψεις στις υπάρχουσες μεθοδολογίες παρακολούθησης και ελέγχου ιών.

3.3.2 ΠΟΙΟΙ ΠΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΕΙΝΑΙ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΙ

Το CrAssphage έχει επίσης καλές δυνατότητες ως ιός δείκτη απόδοσης για την αξιολόγηση και τη διασφάλιση της μείωσης του ιού στις διαδικασίες επεξεργασίας λυμάτων. Στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, τα FIB, δηλαδή το *E. coli*, χρησιμοποιούνται συχνά για την παρακολούθηση της μείωσης των μικροβίων στα λύματα. Ωστόσο, η μείωση των ιών στην επεξεργασία λυμάτων δεν μπορεί να εκτιμηθεί με ακρίβεια από τη FIB, επειδή ο μηχανισμός μείωσης του ιού στην επεξεργασία λυμάτων είναι θεμελιωδώς διαφορετικός από αυτόν των βακτηρίων (Dias et al., 2018, McMinn et al., 2017). Οι απαιτήσεις για έναν ιό-δείκτη επιδόσεων αναγωγής είναι ότι (i) ο ιός είναι σταθερά παρών σε υψηλή συγκέντρωση στα εισρέοντα λύματα και (ii) ο ιός είναι πιο ανθεκτικός στην επεξεργασία λυμάτων από τους παθογόνους ιούς του στόχου μείωσης. Η συνεπής παρουσία στα λύματα είναι απαραίτητη για να είναι δυνατή η αξιολόγηση των επιδόσεων ανά πάσα στιγμή, ανεξάρτητα από την κατάσταση εκδήλωσης της νόσου στον αποχετευτικό αγωγό. Επιπλέον, προκειμένου να αξιολογηθεί η απόδοση της επεξεργασίας ως LRV

(λογαριθμικός βαθμός μείωσης ενός ρύπου), ο ιός αναμένεται να έχει αρκετά υψηλή συγκέντρωση στα εισρέοντα λύματα, όπου ο ιός εξακολουθεί να υπάρχει σε ανιχνεύσιμη συγκέντρωση στα λύματα μετά την επεξεργασία. Έχει αναφερθεί σταθερή παρουσία crAssphage στα εισρέοντα λύματα και στα επεξεργασμένα λύματα στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων. Το CrAssphage είναι ο πιο διαδεδομένος και ποσοτικοποιημένος ιός στα εισρέοντα λύματα, καθώς και στο PMMoV (Farkas et al., 2020). Το εύρος ανίχνευσης του crAssphage γενικά υπερβαίνει τη συγκέντρωση ροταϊού, νοροϊού, εντεροϊού, ιού ηπατίτιδας Ε και σαποϊού (Farkas et al., 2019). Μεταξύ 320 μη επεξεργασμένων δειγμάτων λυμάτων, το crAssphage παρουσίασε την υψηλότερη θετική αναλογία 98% (314/320), ενώ τα PMMoV, HAdV και HPyV ανιχνεύθηκαν 95% (158/166), 93% (111/119) και 80% (276/345), αντίστοιχα (Ahmed et al., 2019a). Επιπλέον, το crAssphage στα λύματα ανιχνεύεται συνεχώς ανεξάρτητα από την εποχιακή διακύμανση. Μελέτες διάρκειας ενός έτους αποκάλυψαν ότι το crAssphage ανιχνεύθηκε συνεχώς υψηλότερη συγκέντρωση από τους εντερικούς ιούς HAdV, HPyV και σαποϊού τόσο στα εισρέοντα λύματα όσο και στα λύματα επεξεργασίας (Ahmed et al., 2021a). Εν τω μεταξύ, ο παθογόνος ιικός δείκτης κοπράνων (HAdV και HPyV) θα μπορούσε να είναι πιο μεταβλητός ανάλογα με το ποσοστό μόλυνσης του πληθυσμού στον αποχετευτικό αγωγό (Ahmed et al., 2021a). Δεν εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές στην αφθονία crAssphage με βάση την πληθυσμιακή κάλυψη ούτε την ικανότητα θεραπείας των WWTP (Crank et al., 2020). Επιπλέον, το crAssphage φέρεται να είχε λιγότερες ωριαίες διακυμάνσεις από τα HAdV και PMMoV στα εισρέοντα λύματα μιας μονάδας επεξεργασίας λυμάτων (Ahmed et al., 2021a). Κατά συνέπεια, το crAssphage έχει καλές δυνατότητες ως δείκτης απόδοσης όσον αφορά τη συνεπή παρουσία σε ανιχνεύσιμη συγκέντρωση τόσο στα εισρέοντα λύματα όσο και στα λύματα επεξεργασίας, με χαμηλή διακύμανση στους εποχιακούς, ημερήσιους ή ωριαίους παράγοντες.

Η εμμονή στην επεξεργασία λυμάτων είναι μια άλλη απαίτηση για τον ιό-δείκτη για τη διασφάλιση της μείωσης των παθογόνων ιών ή του στόχου μείωσης στις διεργασίες επεξεργασίας λυμάτων. Εάν ο ιός-δείκτης είναι πιο ανθεκτικός από τους παθογόνους ιούς, ο παθογόνος ιός αναμένεται επίσης να έχει μεγαλύτερο LRV από τον ιό-δείκτη. Έτσι, διατηρώντας τον LRV του ιού-δείκτη στο επίπεδο-στόχο, μπορούμε να διασφαλίσουμε ότι ο LRV των παθογόνων ιών θα ήταν καλύτερος ή τουλάχιστον σε ίσο επίπεδο με τον ιό-δείκτη. Ο LRV του crAssphage στη συμβατική διεργασία ενεργοποιημένης ιλύος αναφέρεται ως 1,2–2,9 log₁₀ (Farkas et al., 2019), ενώ τα HAdV και HPyV έχουν 0,8–3,7 log₁₀ και 1,0–3,7 log₁₀ του LRV, αντίστοιχα (Hamza et al., 2011). Δεδομένου ότι η λογαριθμική μείωση του crAssphage είναι λιγότερο μεταβλητή από άλλους ιούς, το crAssphage έχει καλές δυνατότητες ως δείκτης απόδοσης για τη μείωση των παθογόνων ιών. Επιπλέον, δεδομένου ότι το crAssphage είναι ένας ιός DNA, είναι δυνητικά ανθεκτικός από άλλους ανθρώπινους εντερικούς ιούς, οι οποίοι είναι κυρίως ιοί RNA. Θα μπορούσε να είναι κατάλληλο για τη μακροπρόθεσμη παρακολούθηση παθογόνων ιών στα λύματα, τα περιβαλλοντικά

ύδατα και την παρακολούθηση των πηγών για μόλυνση των λυμάτων. Η εφαρμογή του crAssphage ως δείκτη κοπράνων θα μπορούσε να βελτιώσει την αξιολόγηση του κινδύνου WBE και την παγκόσμια ανθρώπινη υγεία.

3.4 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΙΟΓΕΝΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

3.4.1 *ΚΡΙΤΗΡΙΟ 1. ΕΥΚΟΛΙΑ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ*

Για την ακριβή ανίχνευση χαμηλών τίτλων ιών, τα περιβαλλοντικά δείγματα συχνά συγκεντρώνονται πριν από την ανίχνευση του ιού. Η υπερφυγοκέντρωση, η υπερδιήθηση, η απορρόφηση/έκχυση και η συσσωμάτωση χρησιμοποιούνται συχνά για τη συγκέντρωση υδάτινων δειγμάτων, και η αποτελεσματικότητα και οι περιορισμοί τους έχουν αναθεωρηθεί προηγουμένως (Barardi et al., 2012). Η αποδοτικότητα της ανάκτησης ιών εξαρτάται από τον τύπο της μεθόδου συγκέντρωσης που χρησιμοποιείται, τον τύπο του δείγματος και τον τύπο του ιού. Έτσι, οι ιοί που μπορούν να ανακτηθούν εύκολα και αναπαραγώγιμα χρησιμοποιώντας απλές μεθόδους συγκέντρωσης θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως δείκτες ιών.

Πολλές προσεγγίσεις είναι διαθέσιμες για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ιών σε περιβαλλοντικά δείγματα, συμπεριλαμβανομένης της PCR και η ισοθερμική ενίσχυση στοχευμένων γονιδίων, οι μικρορευστομηχανικές τεχνικές, η μεταγονιδιωματική, οι βιοαισθητήρες, οι μικροδιατάξεις και οι τεχνικές καλλιέργειας, όπως ανασκοπήθηκε πρόσφατα (Bonadonna et al., 2019). Πολλές από τις αναδυόμενες προσεγγίσεις δείχνουν μεγάλη δυνατότητα να ανιχνεύσουν χαμηλές συγκεντρώσεις ιών σε δύσκολες μήτρες (Dhar and Lee, 2018), ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν έχουν εφαρμοστεί στην παρακολούθηση της ιογενούς μόλυνσης στο υδάτινο περιβάλλον.

Στις περισσότερες μελέτες, ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν εντερικοί ιοί και προτεινόμενοι δείκτες χρησιμοποιώντας προσεγγίσεις πραγματικού χρόνου ποσοτικής PCR (qPCR) (Girones et al., 2010, Haramoto et al., 2018), οι οποίες είναι γρήγορες, εύκολες και φθηνές μέθοδοι που επιτρέπουν την ανίχνευση σε επίπεδο στελέχους. Για παράδειγμα, στοχεύοντας διαφορετικές περιοχές του γονιδίου της πρωτεΐνης καψιδίου, μπορούν να ποσοτικοποιηθούν όλοι οι ανθρώπινοι AdVs ή μόνο οι εντερικοί AdVs. Η qPCR μπορεί να πολλαπλασιαστεί εύκολα, επιτρέποντας την ταυτόχρονη ανίχνευση 2-5 ιογενών στόχων (Ahmed et al., 2019α). Ως εκ τούτου, χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση του επιπέδου και της εξάπλωσης ιικής μόλυνσης στο υδάτινο περιβάλλον (Staggemeier et al., 2017). Πιο πρόσφατα, προσεγγίσεις ψηφιακής PCR, που επιτρέπουν την απόλυτη ποσοτικοποίηση χωρίς να βασίζονται σε πρότυπα, έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση των ιικών φορτίων σε λύματα και σε περιβαλλοντικά ύδατα (Ishii et al., 2014). Αυτές οι μέθοδοι

είναι επίσης αποτελεσματικές, ευαίσθητες και συχνά παρέχουν πιο ακριβή αποτελέσματα από την qPCR (Ishii et al., 2014, Kishida et al., 2014).

Γενικά, οι δοκιμασίες με καθετήρα υδρόλυσης χρησιμοποιήθηκαν κυρίως για την ανίχνευση ιών. Η ειδικότητα και η ευαισθησία των συνόλων εκκινητών και προβολών έχουν αξιολογηθεί (εμπειρικά ή *in silico*) χρησιμοποιώντας ένα σύνολο στοχευμένων και μη στοχευμένων ακολουθιών και σειρές αραίωσης και έχουν αποδειχθεί επαρκείς για την ποσοτικοποίηση των στοχευμένων ακολουθιών (Barrios et al., 2018). Οι υψηλοί ρυθμοί ανίχνευσης υποδηλώνουν επίσης ότι τα σύνολα εκκινητών και προβολών ήταν κατάλληλα για την ευαίσθητη ανίχνευση των στοχευμένων ιών. Παρ' όλα αυτά, η ειδικότητα των συνόλων θα πρέπει να αναθεωρείται συχνά προκειμένου να διασφαλίζεται ότι ανιχνεύονται νέα στελέχη.

Οι προσεγγίσεις που βασίζονται στην PCR έχουν ωστόσο ορισμένα μειονεκτήματα. Η qPCR και ειδικότερα η RT-qPCR συχνά αναστέλλονται από οργανικές ουσίες, π.χ. πολυφαινολικές ενώσεις, που βρίσκονται σε περιβαλλοντικά δείγματα (Ahmed et al., 2015). Επομένως, η χρήση ιών DNA ως δεικτών (π.χ. AdV, PyV, crAssphage) για τη ιογενή μόλυνση που προέρχεται από τα λύματα μπορεί να είναι πιο εφικτή από τη χρήση ιών RNA (AiV, PMMoV, FRNAP) λόγω της πιο ανθεκτικής μοριακής ανίχνευσης των στόχων DNA (Farkas et al., 2017a, Hata et al., 2011). Ένα σημαντικό μειονέκτημα όλων των προσεγγίσεων ανίχνευσης ιών που βασίζονται στην PCR είναι ότι δεν παρέχουν καμία ένδειξη για την μολυσματικότητα του στόχου, και έτσι συχνά υπερεκτιμούν τη συγκέντρωση του ιού και τους κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία (Knight et al., 2013). Η ανίχνευση τμημάτων δεικτών γονιδίων είναι χρήσιμη για την αξιολόγηση της έκτασης της κοπρολογικής ρύπανσης και της ιχνηλάτησης πηγών, ωστόσο, ένας ιδανικός δείκτης θα πρέπει να είναι ικανός να καλλιεργείται *in vitro* για να επιτρέπει την άμεση εκτίμηση της μολυσματικότητας και της αποσύνθεσης του ιού σε λύματα και στο υδάτινο περιβάλλον.

Στις μελέτες που υπόκεινται σε αυτή την ανασκόπηση, οι εντερικοί ιοί, το crAssphage και το PMMoV ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν κυρίως χρησιμοποιώντας δοκιμές βασισμένες σε qPCR. Ωστόσο, σε μερικές μελέτες χρησιμοποιήθηκε η δοκιμή πλάκας ή η ενσωματωμένη κυτταρική καλλιέργεια-qPCR για την ανίχνευση του AdV. Ο συνδυασμός της κυτταρικής καλλιέργειας και της ανίχνευσης qPCR της ιογενούς αναπαραγωγής επέτρεψε την ανίχνευση μολυσματικών ιών, οι οποίοι αναπτύσσονταν αργά και/ή απέτυχαν να παράγουν κυτταροπαθητικά αποτελέσματα. Χρησιμοποιώντας αυτή την προσέγγιση, ο χρόνος που απαιτείται για την ανάλυση μολυσματικότητας μειώθηκε από μία εβδομάδα σε δύο ημέρες, επιτρέποντας την ταχεία ανίχνευση. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις που ανιχνεύθηκαν χρησιμοποιώντας ICC-qPCR σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους καλλιέργειας υποδεικνύουν ότι η ποσοτικοποίηση ιών που καλλιεργούνται με βάση το qPCR είναι πιο ευαίσθητη

και επομένως πιο αξιόπιστη σε περιβαλλοντικά περιβάλλοντα (Fongaro et al., 2013, Sedji et al., 2018).

Ο PyVs και AiV είναι επίσης καλλιεργήσιμοι, ωστόσο, η διαδικασία προπαραγωγής είναι χρονοβόρα και συχνά αβέβαιη (Reuter et al., 2011, Seehafer et al., 1978), γι' αυτό και αυτές οι προσεγγίσεις δεν έχουν προσαρμοστεί σε περιβαλλοντικές μελέτες. Οι προσεγγίσεις βασισμένες σε ICC qPCR μπορεί να είναι κατάλληλες για την εκτίμηση της μολυσματικότητας αυτών των ιών στο περιβάλλον, ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν έχουν αναπτυχθεί δοκιμές ICC qPCR για αυτούς τους στόχους. Το μειονέκτημα οποιασδήποτε δοκιμής βασισμένης σε καλλιέργεια για την ανίχνευση εντερικών ιών είναι η ανάγκη για ειδικό εξοπλισμό, περιβάλλον και προσωπικό για τη συντήρηση συγκεκριμένων κυτταρικών γραμμών, που μπορεί να μην είναι διαθέσιμα σε εργαστήρια ρουτίνας παρακολούθησης.

Για να εκτιμηθεί η αποσύνθεση του ιού όπου δεν είναι διαθέσιμες δοκιμές μολυσματικότητας *in vitro* (π.χ. ιός ηπατίτιδας Ε, ιός νορο- και σαποϊού), μπορούν να πραγματοποιηθούν δοκιμές ακεραιότητας του καψιδίου με βάση την υπόθεση ότι ένα άθικτο σωματίδιο ιού είναι μολυσματικό. Η ακεραιότητα του καψιδίου μπορεί να εκτιμηθεί με την εξάλειψη ελεύθερων ιικών νουκλεϊκών οξέων χρησιμοποιώντας ενζυματική επεξεργασία (Fongaro et al., 2013) και προεπεξεργασία με χρωστική ουσία που διαπερνά (Prevost et al., 2016) ή με την απομόνωση μόνο των άθικτων σωματιδίων ιού χρησιμοποιώντας ανοσομαγνητική διαχωριστική μέθοδο (IMS) (Haramoto et al., 2010). Η μέτρηση με βάση την PCR μετά από δοκιμές ακεραιότητας δείχνει χαμηλότερες συγκεντρώσεις ιών από την άμεση qPCR, καθώς τα ελεύθερα ιικά νουκλεϊκά οξέα απομακρύνονται. Ωστόσο, καθώς τα ακέραια σωματίδια ιών μπορεί να έχουν υποστεί ζημιά και επομένως να είναι μη μολυσματικά, αυτές οι προσεγγίσεις μπορεί να υπερεκτιμούν ακόμα τους ιικούς πληθυσμούς (Fongaro et al., 2013, Walker et al., 2019). Παρ' όλα αυτά, οι δοκιμές ακεραιότητας είναι πολύτιμα εργαλεία για την εκτίμηση του αριθμού των ιικών σωματιδίων σε περιβαλλοντικά δείγματα και η χρήση τους μπορεί να βελτιώσει την εκτίμηση του ιικού κινδύνου.

3.4.2 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Ιοί, όπως τα στελέχη AdV, PyV και AiV, οι οποίοι μολύνουν συγκεκριμένα τους ανθρώπους, είναι λογικές επιλογές για δείκτες ανθρώπινης κοπρανώδους ρύπανσης. Χρησιμοποιώντας αυτούς τους ιούς και τα αντίστοιχα στελέχη που σχετίζονται με ζώα, μπορεί να εκτιμηθεί η πηγή της ρύπανσης (π.χ. άνθρωποι έναντι άγριας ζωής, οικόσιτα ζώα κ.λπ.). Για παράδειγμα, οι Staggemeier et al. (2015) χρησιμοποίησαν τη μέθοδο SYBR Green qPCR για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των AdVs σε

δείγματα νερού και ιζήματος, διακρίνοντας τις αλληλουχίες του γονιδιώματος των ανθρώπινων, βοοειδών, χοίρων, σκύλων και πτηνών AdV με βάση τη θερμοκρασία τήξης τους. Οι άνθρωποι και χοίρειοι ιικοί φορείς (AdVs), ο ιός των βοοειδών (PyV) και ο κυκλικός ιός των χοίρων έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του επιπέδου μόλυνσης που σχετίζεται με τη γεωργία και τα ανθρώπινα λύματα σε αναψυκτικά, υπόγεια και πόσιμα νερά (Fongaro et al., 2015). Στις μελέτες που αξιολογήθηκαν σε αυτή την ανασκόπηση, οι δοκιμές qPCR για τους ιούς AdV στοχεύουν όλες τις ομάδες ανθρώπινων AdV (A-G), τις πιο κοινές ομάδες (A-F) ή συγκεκριμένες ομάδες. Όλες αυτές οι ομάδες είναι ειδικές για τον άνθρωπο, αποδεικνύοντας ότι οι υδρογενείς λοιμώξεις από AdVF (κυρίως τύπου 41) είναι οι πιο διαδεδομένες στα λύματα και στο υδάτινο περιβάλλον (Bofill-Mas et al., 2010).

Ο PMMoV έχει βρεθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις σε οικιακά λύματα (ακατέργαστα και επεξεργασμένα) και σε περιβάλλοντα που είναι μολυσμένα από λύματα, και έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται καλά με άλλους ανθρώπινους δείκτες (Kitajima et al., 2018b, Symonds et al., 2018), υποδηλώνοντας ότι σχετίζεται με ανθρώπινα απόβλητα. Ωστόσο, η κύρια πηγή του ιού είναι οι πιπεριές bell και chili, με την υπόδειξη ότι δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως δείκτες κοπράνων κοντά σε περιοχές παραγωγής εμπορικών πιπεριών. Οι δοκιμές qPCR που στοχεύουν τον PMMoV δείχνουν υψηλή ευαισθησία, ωστόσο, οι ιοί ανιχνεύθηκαν επίσης σε κοπράνων πτηνών, βοοειδών και σκύλων σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Gyawali et al., 2019a), υποδεικνύοντας ότι τα ζώα μπορεί επίσης να έχουν πρόσβαση σε πιπεριές ως πηγή τροφής. Επιπλέον, έχει προταθεί ότι ο PMMoV είναι πιο άφθονος σε κοπράνων και σε λύματα όπου καταναλώνονται περισσότερα προϊόντα πιπεριάς (Symonds et al., 2018), επομένως η επικράτηση του PMMoV θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω. Οι βακτηριοφάγοι που μολύνουν τα Bacteroides, κοινά βακτήρια του ανθρώπινου εντέρου, έχουν επίσης δείξει δυνατότητες ως δείκτες για την κοπρανώδη ρύπανση στο περιβάλλον.

Οι δοκιμές βασισμένες σε qPCR που στοχεύουν τον crAssphage έχουν δείξει καλή ανθρώπινη ειδικότητα. Ενώ έχει παρατηρηθεί κάποια διασταυρούμενη αντίδραση με κόπρανα σκύλων, γλάρων, πουλερικών, χοίρων και βοοειδών (Ahmed et al., 2018a), τα επίπεδα του crAssphage που βρέθηκαν σε αυτές τις μη ανθρώπινες πηγές ήταν αρκετές τάξεις μεγέθους χαμηλότερα από εκείνα των ανθρώπινων πηγών. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις crAssphage σε ζωικές πηγές βρέθηκαν από τους García-Aljaro et al. (2017), γεγονός που μπορεί να αποδοθεί σε συγκεντρωμένα δείγματα και/ή στη χρήση διαφορετικής δοκιμής qPCR. Οι García-Aljaro et al. (2017) διαπίστωσαν επίσης ότι με την κανονικοποίηση των επιπέδων του crAssphage σε σχέση με έναν γενικό δείκτη κοπράνων (*E. coli*), ήταν ακόμα δυνατό να διακριθούν οι ανθρώπινες από τις μη ανθρώπινες πηγές. Παρ' όλα αυτά, οι διασταυρούμενες αντιδράσεις της qPCR με τα ζωικά απόβλητα θα πρέπει να εξεταστούν περαιτέρω για να αξιολογηθεί η ανθρώπινη ειδικότητα.

3.4.3 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 3. ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΥΨΗΛΩΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ΣΤΑ ΛΥΜΑΤΑ

Οι AdVs, PyV, AiV, οι βακτηριοφάγοι που σχετίζονται με το ανθρώπινο έντερο και το PMMoV βρίσκονται συχνά σε ακατέργαστα λύματα και μη επεξεργασμένα απόβλητα σε υψηλές συγκεντρώσεις. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις μεταξύ των πιθανών δεικτών παρατηρήθηκαν για το crAssphage, με συγκεντρώσεις 10^{10} - 10^{12} gc/l σε ακατέργαστα λύματα που ανιχνεύθηκαν σε δείγματα που ελήφθησαν στην Ιαπωνία. Οι συγκεντρώσεις του crAssphage ήταν χαμηλότερες σε δείγματα αποβλήτων που ελήφθησαν στις ΗΠΑ (Φλόριντα; 10^9 - 10^{10} gc/l) (Ahmed et al., 2018a) και στο Ηνωμένο Βασίλειο (Ουαλία; 10^5 - 10^8 gc/l) (Farkas et al., 2019). Το crAssphage δεν έχει προς το παρόν καλά χαρακτηριστεί και ενώ το τρέχον σύνολο εκκινητών και ανιχνευτικών μορίων δεν ευθυγραμμίζεται με κανένα πρόσφατα ανακαλυφθέν συγγενή του crAssphage, είναι πιθανό η μέθοδος ανίχνευσης με qPCR να μην είναι ειδική για μία μόνο στελέχη.

Οι ικοί φορείς (AdVs) ανιχνεύθηκαν σε συγκέντρωση 10^{11} gc/l στα λύματα εισόδου, στην Πίζα, Ιταλία, το 2009-2010 (Carducci and Verani et al., 2013). Σε άλλες μελέτες που χρησιμοποίησαν το ίδιο σετ εκκινητών και ανιχνευτικών μορίων (Hernroth et al., 2002), η συγκέντρωση των AdV ήταν χαμηλότερη, κυμαινόμενη μεταξύ 10^3 και 10^9 gc/l, με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις να μετρώνται σε άλλους σταθμούς επεξεργασίας λυμάτων στην Ιταλία (La Rosa et al., 2010), ακολουθούμενες από κορυφαίες συγκεντρώσεις 10^8 gc/l στη Ρώμη, Ιταλία (Muscillo et al., 2008), στη Βαρκελώνη, Ισπανία (Bofill-Mas et al., 2006), και σε Μίνας Ζεράις και Ρίο ντε Τζανέιρο, Βραζιλία (Assis et al., 2017). Παρόμοιες κορυφαίες συγκεντρώσεις (10^8 gc/l) παρατηρήθηκαν όταν οι ομάδες AdV A-G στοχεύθηκαν στη Γερμανία (Hamza et al., 2009a) και στην Κουίνσλαντ, Αυστραλία (Sidhu et al., 2017b). Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις του AdVF (10^8 - 10^{10} gc/l) παρατηρήθηκαν στις ΗΠΑ (Μίσιγκαν) (Simmons et al., 2011) και στη Γκίτσα, Αίγυπτος (Elmahdy et al., 2019), επιβεβαιώνοντας περαιτέρω ότι αυτή η ομάδα του AdV είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη. Οι PMMoV βρίσκονται επίσης, στα λύματα σε υψηλές συγκεντρώσεις (έως 10^{10} gc/l). Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις PMMoV αναφέρθηκαν στη Φλόριντα και σε άλλες πολιτείες των ΗΠΑ (Rosario et al., 2009), ακολουθούμενες από τη Γερμανία (10^7 - 10^8 gc/l) (Hamza et al., 2011), τη Νέα Ζηλανδία (10^7 gc/l) (Gyawali et al., 2019a), το Βιετνάμ και τις ΗΠΑ (Αριζόνα; 10^6 - 10^7 gc/l) (Kitajima et al., 2014).

Ανάμεσα στους ιούς PyV, ο JCV είχε τις υψηλότερες συγκεντρώσεις (10^7 - 10^8 gc/l) σε λύματα που συλλέχθηκαν στη Βραζιλία και τη Χιλή (Fumian et al., 2010, Levican et al., 2019), ωστόσο, ήταν λιγότερο διαδεδομένος (10^3 - 10^6 gc/l) στις ΗΠΑ (Αριζόνα), στην Ισπανία και στο Ηνωμένο Βασίλειο (Ουαλία) (Bofill-Mas et al., 2006). Ο ιός AiV έχει αναζητηθεί μόνο σε μη επεξεργασμένα λύματα στις ΗΠΑ (Αριζόνα), το

Βιετνάμ και το Νεπάλ (Haramoto and Kitajima, 2017) με συγκεντρώσεις μεταξύ 10^4 και 10^6 gc/l, και έχει αποδειχθεί ότι είναι λιγότερο διαδεδομένος από τους άλλους δείκτες.

Ο ρυθμός ανίχνευσης και η συγκέντρωση των AdV, PyV, AiV, FRNAP-II, crAssphage και PMMoV συνήθως υπερέβαιναν τη συγκέντρωση των νοροϊών, σαποϊών, εντεροϊών, αστεροϊών, ροταϊών και του ιού ηπατίτιδας E (Farkas et al., 2019). Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, οι νοροϊοί και οι ροταϊοί παρουσίασαν υψηλότερη συγκεντρώσεις από αυτές των AdV και PyV (Kaas et al., 2018, Prado et al., 2019).

Οι μέγιστες συγκεντρώσεις καλλιεργημένων φάγων που μολύνουν το *Bacteroides* σε ακατέργαστα λύματα ήταν 10^6 pfu/l, ωστόσο, αυτός ο αριθμός δεν μπορεί να συγκριθεί άμεσα με τη συγκέντρωση άλλων δεικτών λόγω των διαφορετικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση. Ο υικός ρυθμός μολυσματικότητας (δηλαδή gc: μολυσματικές μονάδες) του ιού μπορεί να φτάσει έως και 1000:1, όπως έχει προσδιοριστεί για τον AdV (Hewitt et al., 2011), ωστόσο, οι πραγματικοί ρυθμοί μολυσματικότητας για τους φαγετούς που σχετίζονται με το *Bacteroides* δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί.

Όλοι οι πιθανοί ιοί δείκτες παρουσίασαν υψηλά ποσοστά ανίχνευσης (>90%) σε ακατέργαστα λύματα. Οι AdVs και PyVs ανιχνεύθηκαν συχνά σε λύματα από μεγάλες και μικρές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στην Αμερική, την Ευρώπη, την Ασία και την Αυστραλία. Πληροφορίες σχετικά με την επικράτηση και τη συγκέντρωση του AiV αναφέρθηκαν μόνο για δείγματα ακατέργαστων λυμάτων από μεγάλες εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων στις ΗΠΑ (Αριζόνα) και το Βιετνάμ (Kitajima et al., 2018a). Ο τίτλος του PMMoV εκτιμήθηκε σε δείγματα λυμάτων που προήλθαν από τις ΗΠΑ, τη Γερμανία, τη Νέα Ζηλανδία και το Βιετνάμ (Hamza et al., 2011). Οι συγκεντρώσεις του CrAssphage προσδιορίστηκαν μόνο σε λύματα στο Ηνωμένο Βασίλειο (Ουαλία), την Αυστραλία και τις ΗΠΑ (Φλόριντα) (Ahmed et al., 2019a). Τα τρέχοντα δεδομένα υποδεικνύουν ότι όλοι οι αξιολογηθέντες ιοί δείκτες είναι παρόντες σε ακατέργαστα λύματα σε υψηλές συγκεντρώσεις και επομένως είναι δυνητικά καλοί δείκτες για τη ρύπανση των λυμάτων.

3.4.4 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 4. ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΗΝ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΛΥΜΑΤΩΝ

Οι εντερικοί ιοί έχουν αποδειχθεί ότι είναι εξαιρετικά ανθεκτικοί στις παραδοσιακές διαδικασίες επεξεργασίας λυμάτων. Δεδομένου ότι η αποδοτικότητα αφαίρεσης διαφέρει μεταξύ των τοποθεσιών και του τύπου της διαδικασίας επεξεργασίας, έχουν πραγματοποιηθεί συγκριτικές μελέτες για να μελετηθεί η αντοχή των εντερικών ιών και πιθανών δεικτών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας λυμάτων. Σε αυτή τη μελέτη, αξιολογήθηκαν 24 μελέτες που συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης ιών από διάφορες διαδικασίες επεξεργασίας λυμάτων. Δεκαπέντε από αυτές τις

μελέτες χρησιμοποίησαν αποκλειστικά qPCR και RT-qPCR για την ποσοτική ανάλυση των συγκεντρώσεων ιών. Αυτές οι μοριακές τεχνικές δεν παρέχουν καμία ένδειξη σχετικά με την κατάσταση μολυσματικότητας των ιών και επομένως μπορεί να υπερεκτιμούν τους μολυσματικούς τίτλους ιών σε ακατέργαστα και επεξεργασμένα λύματα καθώς και σε άλλα περιβαλλοντικά δείγματα. Αυτό αποδείχθηκε από τους Flannery et al. (2013).

Έχουν αναφερθεί χαμηλά ποσοστά αφαίρεσης για τους BacGB124P και BacGA17P (περιβαλλοντικοί βακτηριοφάγοι) κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας λυμάτων. Σε περισσότερες μελέτες, η αφαίρεση αυτών των ιών ήταν $2 \log_{10}$, ανεξαρτήτως της μεθόδου επεξεργασίας που χρησιμοποιήθηκε (Dias et al., 2018a).

Δεδομένα που αποκτήθηκαν από μια ευρεία γκάμα μελετών ποσοτικοποίησης ιών με βάση την qPCR έχουν δείξει περιορισμένη απομάκρυνση των AdV, PyV, AiV, crAssphage και PMMoV κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας λυμάτων. Η επεξεργασία με ενεργό ύψος και με την χρήση βιοφίλτρων, χωρίς περαιτέρω επεξεργασία, οδήγησαν σε απομάκρυνση $0.6-1.9$ και $0.3-3.0 \log_{10}$ των AdV και PyV, αντίστοιχα. Οι τριτογενείς διαδικασίες επεξεργασίας οδήγησαν σε επιπλέον απομάκρυνση $1-3.5 \log_{10}$ των AdV και PyV, με τους βιοαντιδραστήρες μεμβράνης σε συνδυασμό με επιπλέον χλωρίωση, φιλτράρισμα και επεξεργασία UV να είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος για την απομάκρυνση ιών (Qiu et al., 2018). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι οι ιοί αδενοϊού (AdVs) είναι πιο ανθεκτικοί στη θεραπεία με UV σε σύγκριση με τον ιό της πολιομυελίτιδας, τον ιό του ροταϊού, τους καλιτσιϊούς και τον ιό της ηπατίτιδας Α (Hijnen et al., 2006). Ωστόσο, μελέτες σε εργαστηριακή κλίμακα υποδεικνύουν ότι οι AdVs είναι πιο ευαίσθητοι στη θεραπεία με χλώριο σε σύγκριση με τους εντεροϊούς και τους καλιτσιϊούς (Cromeans et al., 2010). Ενδιαφέρον είναι ότι βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στην απομάκρυνση των στελεχών του PyV. Ο MCV (Molluscum contagiosum virus) βρέθηκε ότι είναι ο πιο ανθεκτικός στη θεραπεία, ακολουθούμενος από τον JCV και τον BKV (Rusinol et al., 2015). Λιγότερες μελέτες αξιολόγησαν την απομάκρυνση του AiV, του crAssphage και του PMMoV, σε σύγκριση με την απομάκρυνση των AdVs, PyVs και των φάγων. Η μεγαλύτερη αφαίρεση PMMoV ($>4 \log$) παρατηρήθηκε μόνο με τη χρήση τεχνολογιών ηλεκτροσυγκόλλησης και Bardenpho (πολυαντιδραστήρας αερόβιας/αναερόβιας επεξεργασίας) (Schmitz et al., 2016, Symonds et al., 2015).

Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να αξιολογηθεί η μείωση του PMMoV κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με UV και άλλων διαδικασιών επεξεργασίας λυμάτων, προκειμένου να εκτιμηθεί η χρησιμότητά του ως δείκτης. Το κύριο πλεονέκτημα του crAssphage και του PMMoV είναι ότι οι συγκεντρώσεις τους είναι συνήθως υψηλές στα λύματα, και έτσι η αποδοτικότητα της αφαίρεσής τους μπορεί να παρακολουθείται εύκολα. Παρ' όλα αυτά, η μολυσματικότητα και η αποσύνθεσή τους δεν έχουν εξεταστεί λόγω της τρέχουσας έλλειψης μεθόδων καλλιέργειας *in vitro*.

Σε μελέτες όπου η αφαίρεση των ιικών δεικτών συγκρίθηκε με την αφαίρεση κοινών παθογόνων εντερικών ιών, οι ιοί δείκτες παρουσίασαν παρόμοια ή λιγότερη αφαίρεση από τους παθογόνους (Carducci, Verani, 2013).

Επιπλέον, μια μετα-ανάλυση σχετικά με την αποτελεσματικότητα των δευτερευόντων διαδικασιών επεξεργασίας λυμάτων έδειξε ότι η επεξεργασία με ενεργό ιλύ έφερε μείωση 0,20-2,18 log₁₀ του ροταϊού και του νοροϊού GI και GII, ενώ η βιοφίλτραση είχε υψηλότερη αφαίρεση (1,52-4,30 log₁₀) του νοροϊού GII και των εντεροϊών (Sano et al., 2016). Αυτοί οι ρυθμοί αφαίρεσης είναι υψηλότεροι από τους ρυθμούς αφαίρεσης που προσδιορίστηκαν για τους δείκτες που εξετάστηκαν εδώ, υποδηλώνοντας ότι οι δείκτες μπορούν να αντιπροσωπεύουν την αφαίρεση των πιο ανθεκτικών ιών. Ωστόσο, τρεις μελέτες έδειξαν υψηλότερους ρυθμούς απομάκρυνσης του BKV και JCV σε σύγκριση με τον νοροϊό, τον σαποϊό, τον εντεροϊό και τον ροταϊό (Farkas et al., 2018a), υποδεικνύοντας ότι οι ιώσεις PyVs είναι λιγότερο ανθεκτικές από τους παθογόνους ιούς και επομένως θα πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή ως δείκτες. Τα τρέχοντα δεδομένα δείχνουν ότι οι AdV, AiV, FRNAPII/III, crAssphage και PMMoV μπορεί να είναι κατάλληλοι για την αξιολόγηση των διαδικασιών επεξεργασίας λυμάτων.

Καθώς διάφοροι ιοί έχουν διαφορετικές αντιδράσεις στις διαδικασίες επεξεργασίας λυμάτων, συνιστάται η χρήση πολλαπλών δεικτών. Για δείκτες εκτός από τους βακτηριοφάγους που εξετάζονται εδώ, η αποκλειστική χρήση μοριακής ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης αποτελεί σημαντικό περιορισμό στην κατανόηση της απομάκρυνσης εντερικών ιών. Επομένως, θα πρέπει να πραγματοποιούνται συνδυασμένες μελέτες μολυσματικότητας και μοριακές δοκιμές για ιούς που μπορούν να καλλιεργηθούν *in vitro*, προκειμένου να αξιολογηθεί η επιβίωση των ιών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας λυμάτων (Farkas et al., 2018a).

3.4.5 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 5. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Πολλές από τις μελέτες που έχουν διεξαχθεί για την εκτίμηση της ιικής επιμονής σε φυσικά ύδατα έχουν βασιστεί αποκλειστικά στην ποσοτικοποίηση με qPCR. Ενώ η εξάρτηση μόνο από τα δεδομένα qPCR μπορεί να οδηγήσει σε υπερεκτιμήσεις της μολυσματικής ιικής επιμονής, η χρήση της είναι ωστόσο σημαντική, ειδικά όταν εξετάζονται οι μη καλλιεργήσιμοι εντερικοί ιοί. Όταν μετρούν την επιμονή ιικών δεικτών στο υδάτινο περιβάλλον, οι ερευνητές θα πρέπει επομένως να είναι σαφείς αν μελετούν την επιμονή ενός ιικού σήματος (για παράδειγμα, νουκλεϊκά οξέα που ανιχνεύονται με qPCR) ή την μολυσματικότητα των ιών (για παράδειγμα, μέσω καλλιέργειας).

Οι περισσότερες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην εμφάνιση και επιβίωση των ιογενών δεικτών σε επιφανειακά ύδατα. Όταν ποσοτικοποιούνται σε επιφανειακά γλυκά νερά (λίμνες, ποτάμια, ρέματα κ.λπ.) με τη μέθοδο qPCR, αυτοί οι ιογενείς δείκτες (π.χ. AiV, AdV, JCV, PMMoV) ανιχνεύονται συνήθως σε συγκεντρώσεις έως και $4 \log_{10}$ υψηλότερες από αυτές των κοινών εντερικών παθογόνων ιών, π.χ. νοροϊό, εντεροϊό και ροταϊό (Hata et al., 2014). Όλες οι συγκεντρώσεις δεικτών στο νερό του ποταμού συσχετίστηκαν με την απόσταση του σημείου δειγματοληψίας από την πηγή ρύπανσης (σταθμός επεξεργασίας λυμάτων), με σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις να παρατηρούνται κοντά στον σταθμό επεξεργασίας λυμάτων σε σύγκριση με πιο κάτω ή πιο πάνω ρεύματα (Ebdon et al., 2007). Συγκριτικές μελέτες έδειξαν ότι το PMMoV εμφανίστηκε σε υψηλότερη συγκέντρωση από το AdV, AiV και PyV σε επιφανειακά υδάτινα σώματα στις ΗΠΑ (Αριζόνα: 10^3 - 10^6 gc/l και Κολοράντο: 10^4 - 10^5 gc/l), στη Γερμανία (10^4 - 10^5 gc/l) και στο Βιετνάμ (10^4 - 10^6 gc/l) (Betancourt et al., 2014). Η συγκέντρωση του AdV και AiV (έως 10^4 gc/l) ήταν παρόμοια σε δείγματα ποταμού που συλλέχθηκαν στις ΗΠΑ (Κολοράντο) και στην Ιαπωνία (Betancourt et al., 2014, Hata et al., 2014, Sassi et al., 2018), ενώ το AdV ήταν πιο διαδεδομένο από το PyV σε δείγματα ποταμού που συλλέχθηκαν στην Ισπανία (76% έναντι 48% ποσοστά ανίχνευσης), στο Ηνωμένο Βασίλειο (Ουαλία: 88% έναντι 65%), στην Ιαπωνία (61% έναντι 11%) και στη Γερμανία (79% έναντι 59%) (Albinana-Gimenez et al., 2009). Ωστόσο, τα ποσοστά ανίχνευσης και οι συγκεντρώσεις των AdV και JCV ήταν παρόμοια σε πολύ μολυσμένα ποτάμια κοντά στα σημεία εκροής λυμάτων κοντά στη Βαρκελώνη, Ισπανία (100%, 103-104 gc/l) και στο Ρίο ντε Τζανέιρο, Βραζιλία (100%, 102-105 gc/l) (Calgua et al., 2013). Συνολικά, η ανάλυσή μας δείχνει ότι αυτοί οι ιοί δείκτες είναι παρόντες σε επιφανειακά γλυκά νερά που μολύνονται από λύματα σε υψηλές συγκεντρώσεις, γεγονός που επιτρέπει την ακριβή ανίχνευση των ιών και τη συγκριτική ανάλυση του επιπέδου μόλυνσης (Crank et al., 2019, Zhang et al., 2019). Καλλιεργήσιμοι βακτηριοφάγοι ήταν επίσης παρόντες σε επιφανειακά γλυκά νερά.

Οι συγκεντρώσεις των FRNAP-II συσχετίστηκαν με τις συγκεντρώσεις των AdV στο ποταμίο νερό στη Γαλλία (Ogorzaly et al., 2009) και με τους AdV, νοροϊό, αστροϊό και ροταϊό σε δείγματα τροπικών γλυκών νερών στη Σιγκαπούρη (Vergara et al., 2015). Μέχρι σήμερα, δεν έχουν γίνει συγκριτικές μελέτες για τη σύγκριση εντερικών ιών και φάγων που μολύνουν τα *Bacteroides* spp. σε επιφανειακά γλυκά νερά. Περισσότερη έρευνα είναι απαραίτητη σχετικά με την επικράτηση καλλιεργήσιμων φάγων που σχετίζονται με το ανθρώπινο έντερο για να εκτιμηθεί η χρησιμότητά τους ως δείκτες.

Όσον αφορά τα γλυκά νερά, παρόμοιες τάσεις ιικών δεικτών έχουν παρατηρηθεί σε παράκτιες περιοχές όπου υπάρχει μόλυνση από λύματα. Το PMMoV ήταν παρόν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από το PyV σε παράκτιο νερό στο Μαϊάμι της Φλόριντα (Symonds et al., 2016) και το crAssphage ήταν επίσης παρόν σε υψηλότερες

συγκεντρώσεις από το AdV και το JCV σε θαλασσινό νερό που συλλέχθηκε από το Conwy της Ουαλίας (Farkas et al., 2018a). Το AdV είχε επίσης υψηλότερες συγκεντρώσεις από το PyV σε θαλασσινό νερό που συλλέχθηκε από το Ρίο ντε Τζανέιρο και τη Σάντα Κατερίνα, Βραζιλία, τη Φλοριανόπολη, Βραζιλία, τη Βόρεια Ουαλία και την Καταλονία, Ισπανία (Dias et al., 2018a). Τα crAssphage, PMMoV, AdV και PyV είναι συνήθως παρόντα σε συγκεντρώσεις έως 4 log₁₀ υψηλότερες σε θαλασσινό νερό από τον ιό της ηπατίτιδας Α, τον νοροϊό και τον σαποϊό (Dias et al., 2018a), ωστόσο, μια μελέτη διαπίστωσε ότι η συγκέντρωση των δεικτών και του νοροϊού GII, του ροταϊού και του σαποϊού ήταν παρόμοια, περίπου 10⁴ gc/l, σε θαλασσινό νερό που συλλέχθηκε από την ακτή της Ταϊτής (Kaas et al., 2018). Βάσει των δεδομένων που ανασκοπήθηκαν εδώ, οι PMMoV, crAssphage και AdV είναι κατάλληλοι δείκτες για τη ρύπανση των θαλασσινών υδάτων από λύματα.

Πολύ λίγες μελέτες έχουν αξιολογήσει τη συγκέντρωση εντερικών ιών και ιογενών δεικτών σε υπόγεια ύδατα. Οι AdV, JCV, AiV, PMMoV, BacGB124P και BacARABA84P ανιχνεύθηκαν σε μολυσμένα υπόγεια ύδατα στις ΗΠΑ (Αριζόνα και Κολοράντο) και στο Βιετνάμ σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (Albinana-Gimenez et al., 2009), επομένως οι συγκεντρώσεις δεν μπορούν να συγκριθούν. Μελλοντικές μελέτες μπορεί να περιλαμβάνουν την αποτελεσματική συγκέντρωση μεγάλων όγκων υπόγειου νερού για να προσδιοριστούν με ακρίβεια οι ιογενείς συγκεντρώσεις και οι σχετικοί κίνδυνοι.

Η κατανόηση του πόσο καιρό επιβιώνουν οι παθογόνοι και οι δείκτες ιοί στο περιβάλλον είναι κρίσιμη για την ακριβή εκτίμηση και διαχείριση του κινδύνου. Οι μηχανισμοί και οι παράγοντες που επηρεάζουν την αποσύνθεση των ιών, όπως ο τύπος του ιού, η θερμοκρασία, η μικροβιακή δραστηριότητα, το pH, ο τύπος/η αγωγιμότητα του νερού, η UV/η ηλιακή ακτινοβολία και η παρουσία στερεών/οργανικών υλών, έχουν αξιολογηθεί (Jin and Flury, 2002). Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι εντερικοί ιοί είναι πιο σταθεροί στο υδάτινο περιβάλλον από τους παραδοσιακούς δείκτες, όπως τα κολοβακτηρίδια και οι κολοφαγικοί ιοί (El Senousy et al., 2014). Οι FRNAP καλλιεργούνται εύκολα και η επιμονή τους σε επιφανειακά ύδατα έχει μελετηθεί τόσο σε επιφανειακά γλυκά νερά όσο και σε θαλασσινό νερό (Hata et al., 2016). Γενικά, οι FRNAP-I έχουν βρεθεί ότι είναι οι πιο επίμονες, ακολουθούμενες από τις FRNAP-II, FRNAP-III και στη συνέχεια τις FRNAP-IV. Χρησιμοποιώντας προσομοιωμένο ηλιακό φως, οι Flannery et al. (2013) μελέτησαν την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στην επιμονή των FRNAP-II και του νοροϊού σε θαλασσινό νερό. Οι μειώσεις στους ανιχνεύσιμους ιούς RT-qPCR ήταν παρόμοιες για τον νοροϊό και τις FRNAP-II υπό τις συνθήκες ηλιακού φωτός το καλοκαίρι και το χειμώνα. Ωστόσο, χρειάστηκε μεταξύ 81% και 88% περισσότερο χρόνο για μια μείωση 90% στους ανιχνεύσιμους ιούς FRNAP-II από ότι για τους μολυσματικούς FRNAP-II. Αυτό υπογραμμίζει ξανά την ανάγκη να ληφθεί υπόψη η μολυσματικότητα κατά τη μελέτη της επιμονής των ιών στο περιβάλλον. Οι Brion et al. (2002) μελέτησαν επίσης την

επιβίωση διαφορετικών γονότυπων FRNAP σε επιφανειακά ύδατα. Οι περιβαλλοντικοί απομονωτές των FRNAP-II είχαν τη μεγαλύτερη μεταβλητότητα στην επιβίωση μεταξύ των απομονωτών, ενώ οι FRNAP-III είχαν τη χαμηλότερη μεταβλητότητα στην επιβίωση μεταξύ των απομονωτών. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι FRNAP-III είναι κατάλληλες για να προσδιορίσουν αν υπήρξε πρόσφατη μόλυνση ενός υδάτινου σώματος από ανθρώπινα κόπρανα. Αντίθετα, οι FRNAP-II ήταν πιο κατάλληλες για να υποδείξουν μόλυνση από απομακρυσμένες ή σποραδικές ανθρώπινες πηγές μόλυνσης. Λόγω της εύκολης μοριακής ανίχνευσης και της σχετικά απλής *in vitro* καλλιέργειας, η επιβίωση του AdV έχει επίσης μελετηθεί εκτενώς. Οι αδενοϊοί (AdVs) έχουν δείξει μείωση 1-2 $\log_{10}$ στην μολυσματικότητα σε ακατέργαστο και αποστειρωμένο υπόγειο και επιφανειακό νερό σε διάστημα 120-180 ημερών (Ogorzaly et al., 2010, Rigotto et al., 2011). Στο θαλασσινό νερό, η μείωση της ιογενούς μολυσματικότητας ήταν πιο γρήγορη από ότι στο υπόγειο νερό, με 1.2-1.4 $\log_{10}$ μειώσεις AdV σε 28 ημέρες (Enriquez et al., 1995) και το ηλιακό φως να ενισχύει σημαντικά την αποσύνθεση με ρυθμό τουλάχιστον 2 $\log_{10}$ μείωση ανά ημέρα (Liang et al., 2017). Οι AdVs ήταν πιο σταθερές σε υπόγειο και επιφανειακό νερό από ότι ο πολιοϊός, ο ροταϊός και ο ιός της ηπατίτιδας A (El-Senousy et al., 2014, Enriquez et al., 1995). Οι Ogorzaly et al. (2010) έδειξαν ότι ο AdV επιβιώνει περισσότερο σε υπόγειο νερό από ότι οι MS2 (FRNAP-I) και GA φάγοι (FRNAP-II). Αυτή η διαφορά στην επιβίωση και την επιμονή αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση της θερμοκρασίας από 4 °C σε 20 °C. Αυτές οι μελέτες υπογραμμίζουν τη σταθερότητα του AdV σε σύγκριση με άλλους ιούς, ωστόσο, αυτές οι μελέτες διεξήχθησαν σε εργαστηριακά πειράματα και η ιογενής σταθερότητα μπορεί να διαφέρει σε συνθήκες πεδίου. Ο PyV έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι εξίσου ανθεκτικός στο ηλιακό φως σε θαλασσινό νερό όπως ο AdV (Ahmed et al., 2019b, Liang et al., 2017). Αντίθετα, ο φάγος crAss αποδείχθηκε ότι είναι εξίσου επίμονος με τον AdV και τον PyV σε θαλάσσια νερά κολύμβησης (Ahmed et al., 2019b). Η χρονική αποσύνθεση των AiV, PMMoV και καλλιεργήσιμων βακτηριοφάγων που μολύνουν τα *Bacteroides* δεν είναι ακόμη γνωστή και θα πρέπει να διερευνηθεί και να συγκριθεί με την αποσύνθεση του AdV για να προσδιοριστεί η χρησιμότητά τους ως δείκτες. Η σύγκριση των μηχανισμών αποσύνθεσης του PMMoV και των άλλων ιογενών δεικτών θα ήταν ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα λόγω των διαφορών στη δομή των ιόντων.

3.4.6 ΚΡΙΤΗΡΙΟ 6. ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Όλοι οι δυνητικοί ιοί δείκτες που ανασκοπήθηκαν εδώ έχουν ανιχνευθεί σε περιβαλλοντικά ύδατα, λύματα ή δείγματα κοπράνων ατόμων στην Ασία, την Ευρώπη, την Αυστραλία, την Αφρική και τις ΗΠΑ, υπογραμμίζοντας τη παγκόσμια

κατανομή αυτών των ιών (Cinek et al., 2018). Στις ανασκοπημένες μελέτες, οι ιοί δείκτες ανιχνεύθηκαν και ποσοτικοποιήθηκαν σε 31 χώρες (συμπεριλαμβανομένων 10 πολιτειών των ΗΠΑ), με την πλειονότητα των μελετών να διεξάγονται στις ΗΠΑ, τη Βραζιλία, τη Δυτική Ευρώπη, την Ιαπωνία και την Αυστραλία. Ενώ τα διαθέσιμα δεδομένα υποδηλώνουν ότι αυτοί οι ιοί είναι παγκοσμίως κατανεμημένοι, πολύ περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με τις ποσότητες εντερικών και ιών δεικτών είναι διαθέσιμες από αναπτυσσόμενες χώρες (π.χ. Ινδία, Βόρεια Ασία και οι περισσότερες αφρικανικές χώρες). Μέχρι σήμερα, κανένας από αυτούς τους ιούς δεν έχει μελετηθεί σε νερό από την Ανταρκτική, όπου θα μπορούσαν να υποδείξουν μόλυνση παρθένων περιοχών από ερευνητές ή μακρινή διασπορά. Κατά τη διάρκεια μακροχρόνιων ερευνών παρακολούθησης, στον ποταμό Κατσούρα δυτικά του Κιότο, Ιαπωνία, το FRNAP-II έδειξε πολύ περιορισμένη εποχικότητα, με παρόμοια επίπεδα τους χειμερινούς και καλοκαιρινούς μήνες (Hata et al., 2016). Ωστόσο, σε έναν παραπόταμο του ποταμού Ούτζι νότια του Κιότο, το FRNAP-II ανιχνεύθηκε μόνο κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Ο FRNAP III βρέθηκε επίσης να είναι πιο διαδεδομένο κατά τη διάρκεια του χειμώνα και στα δύο σημεία, μια τάση που παρατηρήθηκε επίσης σε εκροές από το Johkasou από τους Setiyawan et al. (2013). Καλλιεργήσιμοι φάγοι που μολύνουν το *Bacteroides* δεν έδειξαν εποχιακές αλλαγές στη συγκέντρωσή τους σε ποτάμια ύδατα στο Ηνωμένο Βασίλειο (Ebdon et al., 2007) και σε λύματα που συλλέχθηκαν σε επτά πολιτείες των ΗΠΑ (McMinn et al., 2014) και στη Βραζιλία (Prado et al., 2018). Στις ανασκοπημένες μελέτες, οι crAssphage, AdV και PyV δεν έδειξαν εποχιακές αλλαγές στις συγκεντρώσεις τους σε ακατέργαστα και επεξεργασμένα λύματα, δείγματα ποταμού και θαλασσινού νερού (Carducci and Verani, 2013). Οι AiV και PMMoV έδειξαν επίσης σταθερούς τίτλους σε επεξεργασμένα και ακατέργαστα λύματα καθ' όλη τη διάρκεια του έτους (Iaconelli et al., 2016), ωστόσο, οι μέγιστες συγκεντρώσεις για τον AiV παρατηρήθηκαν σε λύματα στην Ιαπωνία κατά τη διάρκεια του χειμώνα και της άνοιξης (Kitajima et al., 2013). Ο PMMoV δεν έδειξε εποχικότητα ούτε σε ποτάμια ύδατα (Haramoto et al., 2013, Rosario et al., 2009). Υψηλότερες συγκεντρώσεις AdV παρατηρήθηκαν σε επεξεργασμένα λύματα που συλλέχθηκαν στην Ουαλία κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού σε σύγκριση με το χειμώνα και την άνοιξη, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται σε ξηρές καιρικές συνθήκες και σε προσωρινή αύξηση του πληθυσμού λόγω τουρισμού τους καλοκαιρινούς μήνες (Farkas et al., 2018). Επιπλέον, υψηλότερες συγκεντρώσεις AdV ανιχνεύθηκαν σε ακατέργαστα λύματα στη Νορβηγία κατά τη διάρκεια του Ιανουαρίου-Μαρτίου σε σύγκριση με τις συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια του Απριλίου-Δεκεμβρίου (Myrmel et al., 2015). Η επικράτηση του AdV ήταν επίσης υψηλότερη κατά την περίοδο φθινοπώρου-χειμώνα από ότι κατά την άνοιξη-καλοκαίρι σε λύματα που συλλέχθηκαν στην Αίγυπτο (Elmahdy et al., 2019). Ομοίως, οι AdVs ανιχνεύθηκαν σε χαμηλές συγκεντρώσεις κατά τους καλοκαιρινούς και φθινοπωρινούς μήνες σε δείγματα ποταμού που συλλέχθηκαν στην Ιαπωνία και στη Γερμανία, αντίστοιχα (Hamza et al., 2009b, Kishida et al., 2012), πιθανώς λόγω ξηρών καιρικών συνθηκών. Συνολικά, αυτά τα

ευρήματα υποδηλώνουν ότι οι δείκτες είναι ανιχνεύσιμοι και ποσοτικοποιήσιμοι καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, γεγονός που επιτρέπει τη συνεχή αξιολόγηση της μόλυνσης των λυμάτων. Τα τρέχοντα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι βροχοπτώσεις έχουν μεγαλύτερη επίδραση στα ικά φορτία από τις χρονικές αλλαγές στον αριθμό των μολύνσεων. Παρ' όλα αυτά, αυτό θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω συγκρίνοντας επιδημιολογικά δεδομένα, ικά φορτία σε λύματα και βροχοπτώσεις σε διάφορα έτη.

Όσον αφορά την λεπτομερή χρονική μεταβλητότητα, η επίδραση της βροχής στις συγκεντρώσεις ιών στο επιφανειακό νερό είναι μεταβλητή. Από τη μία πλευρά, έχει αναφερθεί μείωση των συγκεντρώσεων ιών στο επιφανειακό νερό λόγω της αραίωσης του υδάτινου σώματος (Grøndahl-Rosado et al., 2014b). Αντίθετα, αρκετές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ βροχοπτώσεων και αυξημένων συγκεντρώσεων εντερικών ιών στο νερό (Ebdon et al., 2007, Wicki et al., 2015). Σε περιοχές με συνδυασμένα αποχετευτικά συστήματα, μεγάλο μέρος αυτής της αύξησης της ρύπανσης οφείλεται πιθανώς στην επιπλέον εισροή λυμάτων μέσω των CSOs και της αποχέτευσης όμβριων υδάτων. Οι CSOs εκκενώνουν κυρίως μη επεξεργασμένα (φιλτραρισμένα, μερικώς καθιζανόμενα ή μη επεξεργασμένα) λύματα στο περιβάλλον. Αυτό σχεδόν σίγουρα έχει ως αποτέλεσμα την εκκένωση μεγαλύτερου αριθμού εντερικών ιών στα παραλαμβανόμενα ύδατα από ό,τι θα συνέβαινε διαφορετικά από πλήρως επεξεργασμένα λύματα (Fong et al., 2010, Hata et al., 2014). Επιπλέον, σχετικά λίγοι CSOs έχουν παρακολουθήσει τη διάρκεια εκροής και σχεδόν κανένας δεν έχει απαιτήσεις παρακολούθησης μικροβιολογικών ή χημικών παραμέτρων. Επομένως, στις περισσότερες περιπτώσεις, η εισροή ρύπανσης μπορεί να παρακολουθείται μόνο μέσω της επιτήρησης των ρύπων που προέρχονται από λύματα σε υδάτινα σώματα

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Κατά την παρούσα εργασία προέκυψε ότι ορισμένοι ιοί έχουν ιδιαίτερη αξία ως δείκτες για την ανίχνευση ρύπανσης από λύματα στο υδάτινο περιβάλλον. Λόγω της ευρείας παρουσίας τους, μπορούν να αξιοποιηθούν παγκοσμίως σε εκτιμήσεις κινδύνου για την ποιότητα του νερού. Ιδιαίτερη σημασία έχουν οι εντερικοί ιοί που σχετίζονται αποκλειστικά με τον ανθρώπινο οργανισμό (όπως οι AdV, PyV, AiV), καθώς μας επιτρέπουν να εντοπίσουμε ειδικά τη ρύπανση που προέρχεται από ανθρώπινες δραστηριότητες. Παράλληλα, ιοί όπως οι crAssphage και PMMoV, αν και δεν είναι παθογόνοι για τον άνθρωπο, έχουν επίσης συνδεθεί με οικιακής προέλευσης λύματα και μπορούν να συμβάλουν στην παρακολούθηση της ρύπανσης.

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα αυτών των δεικτών είναι ότι η εργαστηριακή τους καλλιέργεια δεν ενέχει κινδύνους για την υγεία των ερευνητών. Οι FRNAP-II και FRNAP-III φαίνεται επίσης να συνδέονται με λύματα ανθρώπινης προέλευσης, αν και υπάρχουν ερωτήματα ως προς την παγκόσμια εφαρμοσιμότητά τους λόγω των φυσικών ξενιστών τους. Οι περισσότερες από αυτές τις ιογενείς ομάδες μπορούν να εντοπιστούν με σχετική ευκολία μέσω μεθόδων qPCR, αν και υπάρχουν ακόμη τεχνικές προκλήσεις, όπως η έλλειψη αναπτυγμένων δοκιμών για ορισμένα είδη φάγων. Παρατηρείται επίσης ότι οι ιοί DNA είναι συχνά πιο σταθεροί και πιο οικονομικοί στην ανίχνευση από τους ιούς RNA. Επιπλέον, υπάρχουν διαθέσιμες μέθοδοι για την αξιολόγηση της μολυσματικότητας συγκεκριμένων ιών, αν και δεν έχουν ακόμη αξιολογηθεί επαρκώς σε περιβαλλοντικές συνθήκες.

Νέες τεχνολογίες, όπως οι βιοαισθητήρες και τα μικρορευστομηχανικά συστήματα, παρουσιάζουν δυνατότητες για πιο άμεση και τακτική παρακολούθηση της ιογενούς παρουσίας στο περιβάλλον. Ωστόσο, για την ευρεία εφαρμογή τους απαιτείται περαιτέρω αξιολόγηση ως προς την αξιοπιστία και το κόστος τους, καθώς και η αντιμετώπιση πρακτικών προβλημάτων, όπως η βιοφθορά και οι παρεμβολές στην ανίχνευση. Από τα μέχρι τώρα δεδομένα, φαίνεται ότι οι AdV είναι οι πιο αξιόπιστοι δείκτες ρύπανσης, χάρη στην ευκολία εντοπισμού τους, τη μεγάλη τους συγκέντρωση στα λύματα και την ανθεκτικότητά τους στο περιβάλλον. Παρ' όλα αυτά, και οι AiV, crAssphage και PMMoV δείχνουν να έχουν ενδιαφέρουσα δυναμική, γεγονός που καθιστά απαραίτητη τη συνέχιση της έρευνας για την αξιολόγησή τους. Προτείνεται η εστίαση της μελλοντικής έρευνας σε θέματα όπως η συσχέτιση αυτών των ιών με μη ανθρώπινες πηγές ρύπανσης, η συμπεριφορά τους σε διαφορετικά υδάτινα περιβάλλοντα, καθώς και η ανάπτυξη τυποποιημένων μεθόδων για την ανίχνευσή τους. Επιπλέον, η ενσωμάτωσή τους σε μαθηματικά μοντέλα πρόβλεψης κινδύνου θα μπορούσε να συμβάλει σημαντικά στην προστασία της δημόσιας υγείας, ενώ η χρήση τους από τις αρμόδιες αρχές θα διευκολύνει τη διαμόρφωση σχετικών νομοθετικών πλαισίων για τη διαχείριση της ιογενούς ρύπανσης.

Μια πιο ολοκληρωμένη κατανόηση της παρουσίας, της επιβίωσης και της συμπεριφοράς αυτών των ιών στο περιβάλλον θα αποτελέσει πολύτιμο εργαλείο για τη διατήρηση της ποιότητας των υδάτων και την πρόληψη της μετάδοσης ιογενών ασθενειών μέσω του νερού και των τροφίμων.

Βιβλιογραφία

1. Ahmad SM, Yusafzai F, Bari T. Assessment of heavy metals in surface water of River Panjkora Dir Lower, KPK Pakistan. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 2014;5:144-152.
2. Ahmad, T. , Anjum S., Afzal M. S., Raza H., Zaidi N.-S. S., and Arshad N.. 2015. "Molecular Confirmation of Enterovirus From Sewage and Drinking Water Samples From Three Cities, Pakistan: A Potential Risk Factor for Public Health." *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 46: 640–649.
3. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, ParasharUD, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: asystematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* (2014) 14:725–30. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70767-4
4. Ahmed W, Triplett C, Gomi R, Gyawali P, Hodgers L, and Toze S. 2015. Assessment of genetic markers for tracking the sources of human wastewater associated *Escherichia coli* in environmental waters. *Environ Sci Technol* 49:9341–9346.
5. Ahmed W., Angel N., Edson J., Bibby K., Bivins A., O'Brien J. W., et al. (2020). First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci. Total Environ.* 728:138764. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764, PMID
6. Ahmed, W.; Wan, C.; Goonetilleke, A. and Gardner, T. (2010). Evaluating sewage-associated JCV and BKV polyomaviruses for sourcing human fecal pollution in a coastal river in Southeast Queensland, Australia. *J. Environ. Qual.*, 39(5): 1743–1750.
7. Ahmed, W., Lobos, A., Senkbeil, J., Peraud, J., Gallard, J., Harwood, V.J., 2018a. Evaluation of the novel crAssphage marker for sewage pollution tracking instorm drain outfalls in Tampa, Florida. *Water Res.* 131, 142e150. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.011>
8. Ahmed, W., Payyappat, S., Cassidy, M., Besley, C., 2019a. A duplex PCR assay for the simultaneous quantification of *Bacteroides* HF183 and crAssphage CPQ_056 marker genes in untreated sewage and stormwater. *Environ. Int.* 126, 252e259.
9. Ahmed, W., Zhang, Q., Kozak, S., Beale, D., Gyawali, P., Sadowsky, M.J., Simpson, S., 2019b. Comparative decay of sewage-associated marker

genes in beach water and sediment in a subtropical region. *Water Res.* 149, 511e521. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.088>

10. Al Jayyousi O R (2003) Greywater reuse: towards sustainable water management, *Desalination*, 156:181-192.
11. Albinana-Gimenez, N.; Miagostovich, M. P.; Calgua, B.; Huguet, J. M.; Matia, L. and Girones, R. (2009). Analysis of adenoviruses and polyomaviruses quantified by qPCR as indicators of water quality in source and drinking-water treatment plants. *Water Res.*, 43(7): 2011–2019.
12. Allmann, E. , Pan L., Li L., Li D.,S., and Lu Y.. 2013. “Presence of Enteroviruses in Recreational Water in Wuhan, China.” *Journal of Virological Methods* 193: 327–331.
13. Ammerman, M.L.; Mullapudi, S.; Gilbert, J.; Figueroa, K.; de Paula Nogueira Cruz, F.; Bakker, K.M.; Eisenberg, M.C.; Foxman, B.; Wigginton, K.R. Norovirus GII wastewater monitoring for epidemiological surveillance. *PLoS Water* 2024, 3, e0000198.
14. Andani A, et al. Global epidemiology of hepatitis A virus infection: a systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 2020;92(8):873–884.
15. Anderson, K. L.; Whitlock, J. E. and Harwood, V. J. (2005). Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(6): 3041–3048.
16. Ansari, S. A., Springthorpe, V. S., Sattar, S. A., Rivard, S., & Rahman, M. (1991). Potential role of hands in the spread of respiratory viral infections: studies with human parainfluenza virus 3 and rhinovirus 14. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(10), 2115–2119. <https://doi.org/10.1128/jcm.29.10.2115-2119.1991>
17. Arowolo OA, Oladejo A, Odetunde OA, et al. Molecular epidemiology of astrovirus in children with gastroenteritis in southwestern Nigeria. *J Clin Virol.* 2020;130:104459. doi:10.1016/j.jcv.2020.104459
18. Asghar, H. , Diop O. M., Weldegebriel G., et al. 2014. “Environmental Surveillance for Polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative.” *Journal of Infectious Diseases* 210: S294–S303.
19. Aslan A, Xagorarakis I, Simmons FJ, Rose JB, Dorevitch S. Occurrence of adenovirus and other enteric viruses in limited-contact freshwater recreational areas and bathing waters. *J Appl Microbio.* 2011;111:1250–1261. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05130.x.

20. Asmare, Z.; Erkihun, M. Recent Application of DNA Microarray Techniques to Diagnose Infectious Disease. In *Pathology and Laboratory Medicine International*; Taylor & Francis: Abingdon, UK, 2023; pp. 77–82.
21. Assis, A.S.F., Otenio, M.H., Drumond, B.P., Fumian, T.M., Miagostovich, M.P., da Rosa e Silva, M.L., 2017. Optimization of the skimmed-milk flocculation method for recovery of adenovirus from sludge. *Sci. Total Environ.* 583, 163e168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.045>
22. Aziz, KH; Mustafa, FS; Omer, KM; Hama, S; Hamarawf, RF; Rahman, KO. (2023). Heavy metal pollution in the aquatic environment: efficient and low-cost removal approaches to eliminate their toxicity: a review. *RSC Adv.* 13(26): 17595–17610. <https://doi.org/10.1039/d3ra00723e>
23. Azubuike, C.C.; Couceiro, F.; Robson, S.C.; Piccinni, M.Z.; Watts, J.E.M.; Williams, J.B.; Callaghan, A.J.; Howard, T.P. Developing Biosensors for SARS-CoV-2 Wastewater-Based Epidemiology: A Systematic Review of Trends, Limitations and Future Perspectives. *Sustainability* 2022, 14, 16761.
24. Badur, K. E. (2014). Viral pathogens in water: occurrence, public health impact, and available control strategies. *Curr. Opin. Virol.*, 4, 50–57.
25. Badur, S., Öztürk, S., Pereira, P., Abdel Ghany, M., Iraz, M., Öksüz, L., & Uyar, Y. (2019). Systematic review of the rotavirus infection burden in the WHO-EMRO region. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 15(11), 2754–2768. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1603989>
26. Bae J, Schwab KJ. Evaluation of murine norovirus, feline calicivirus, poliovirus, and MS2 as surrogates for human norovirus in a model of viral persistence in surface water and groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008;74(2):477–484. doi: 10.1128/AEM.02095-06.
27. Baggi, F.; Demarta, A. and Peduzzi, R. (2001). Persistence of viral pathogens and bacteriophages during sewage treatment: lack of correlation with indicator bacteria. *Res. Microbiol.*, 152(8): 743–751.
28. Baig, J.A., Kazi, T. G., Arain, M. B., Afridi, H. I., Kandhro, G.A., Sarfraz, R. A., Jamali, M. K. and Shah, A. Q. (2009). Evaluation of arsenic and other physico-chemical parameters of surface and ground water of Jamshoro, Pakistan. *Journal of Hazardous Materials*. 166, 662–669.

29. Barardi, C.R., Viancelli, A., Rigotto, C., Correa, A.A., Moresco, V., Souza, D.S., Elmahdy, M.E., Fongaro, G., Pilotto, M.R., Nascimento, M.A., 2012. Monitoring viruses in environmental samples. *Int. J. Environ. Sci. Eng. Res.* 3, 62e79.
30. Barrett, M.; Fitzhenry, K.; O’Flaherty, V.; Dore, W.; Keaveney, S.; Cormican, M.; Rowan, N.; Clifford, E. Detection, fate and inactivation of pathogenic norovirus employing settlement and UV treatment in wastewater treatment facilities. *Sci. Total Environ.* 2016, 568, 1026–1036
31. Barrios, M.E., Blanco Fernández, M.D., Cammarata, R.V., Torres, C., Mbayed, V.A., 2018. Viral tools for detection of fecal contamination and microbial source tracking in wastewater from food industries and domestic sewage. *J. Virol. Methods* 262, 79e88. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.10.002>.
32. Bartlett, S. (2003). Water, Sanitation and Urban Children: the Need to Go beyond “Improved” Provision. *Environ. Urbanization* 15 (2), 57–70. doi:10.1177/095624780301500220
33. Bartram, J.; Fewtrell, L. and Stenström, T. A. (2001). Harmonised assessment of risk and risk management for water-related infectious disease: an overview. IWA Publishing, London.
34. Bellou M., Kokkinos P., Vantarakis A. Shellfish-borne viral outbreaks: A systematic review. *Food Environ. Virol.* 2013;5:13–23. doi: 10.1007/s12560-012-9097-6.
35. Benjamin, D.C.; Perdue, S.S. Site-Directed Mutagenesis in Epitope Mapping. *Methods* 1996, 9, 508–515
36. Berg, G. (1978). The indicator system. *Indicators of Viruses in Water and Food*, 1–13.B
37. Berg, G. (1978). The indicator system. *Indicators of Viruses in Water and Food*, 1–13.
38. Bessonov, N.; Neverova, D.; Popov, V.; Volpert, V. Emergence and competition of virus variants in respiratory viral infections. *Front. Immunol.* 2022, 13, 945228.
39. Betancourt, W.Q., Kitajima, M., Wing, A.D., Regnery, J., Drewes, J.E., Pepper, I.L., Gerba, C.P., 2014. Assessment of virus removal by managed aquifer recharge at three full-scale operations. *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* 49, 1685e1692. <https://doi.org/10.1080/10934529.2014.951233>

40. Bhatt, A.; Arora, P.; Prajapati, S.K. Occurrence, fates and potential treatment approaches for removal of viruses from wastewater: A review with emphasis on SARS-CoV-2. *J. Environ. Chem. Eng.* 2020, 8, 104429
41. Bitton, G. (2005). *Wastewater microbiology*. John Wiley and Sons.
42. Blanch, A. R.; Belanche-Muñoz, L.; Bonjoch, X.; Ebdon, J.; Gantzer, C.; Lucena, F.; Ottoson, J.; Kourtis, C.; Iversen, A. and Kühn, I. (2006). Integrated analysis of established and novel microbial and chemical methods for microbial source tracking. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(9): 5915–5926.
43. Boehm, A. B. , Shelden B., Duong D., Banaei N., White B. J., and Wolfe M. K.. 2024. “A Retrospective Longitudinal Study of Adenovirus Group F, Norovirus GI and GII, Rotavirus, and Enterovirus Nucleic Acids in Wastewater Solids at Two Wastewater Treatment Plants: Solid-Liquid Partitioning and Relation to Clinical Testing Data.” *mSphere* 9, no. 3: e00736-23. 10.1128/msphere.00736-23.
44. Bofill-Mas, S., Albinana-Gimenez, N., Clemente-Casares, P., Hundesa, A., Rodriguez-Manzano, J., Allard, A., Calvo, M., Girones, R., 2006. Quantification and stability of human adenoviruses and polyomavirus JCPyV in wastewater matrices. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7894e7896. <https://doi.org/10.1128/AEM.00965-06>
45. Bofill-Mas, S., Calgua, B., Clemente-Casares, P., la Rosa, G., Iaconelli, M., Muscillo, M., Rutjes, S., de Roda Husman, A.M., Grunert, A., Gräber, I., Verani, M., Carducci, A., Calvo, M., Wyn-Jones, P., Girones, R., 2010. Quantification of human adenoviruses in European recreational waters. *Food Environ. Virol.* 2, 101e109. <https://doi.org/10.1007/s12560-010-9035-4>.
46. Bonadonna, L.; Briancesco, R.; Ottaviani, M. and Veschetti, E. (2002). Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and correlation with microbial, chemical and physical water variables. *Environ. Monit. Assess.*, 75(3): 241–252.
47. Bonanno Ferraro, G.; Veneri, C.; Mancini, P.; Iaconelli, M.; Suffredini, E.; Bonadonna, L.; Lucentini, L.; Bowo-Ngandji, A.; Kengne-Nde, C.; Mbaga, D.S.; et al. A State-of-the-Art Scoping Review on SARS-CoV-2 in Sewage Focusing on the Potential of Wastewater Surveillance for the Monitoring of the COVID-19 Pandemic. *Food Environ. Virol.* 2022, 14, 315–354.
48. Borchardt MA, Spencer SK, Kieke BA, et al. Human enteric viruses in source waters for drinking water treatment plants. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(11):6886–6894. doi:10.1128/AEM.70.11.6886-6894.20

49. Bosch, A. (1998). Human enteric viruses in the water environment: a minireview. *Int Microbiol*, 1(3): 191–196.
50. Bosch, A. (2007). *Human viruses in water: Perspectives in medical virology*. Elsevier.
51. Bosch, A., Pinto, R.M., Guix, S., 2016. Foodborne viruses. *Curr. Opin. Food Sci.* 8, 110e119. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.04.002>.
52. Brion, G.M., Meschke, J.S., Sobsey, M.D., 2002. F-specific RNA coliphages: occurrence, types, and survival in natural waters. *Water Res.* 36, 2419e2425.
53. Brown C (2002) Water Use in the professional car wash industry. International Carwash Association. Chicago, Illinois, USA. Accessed September 1, 2020.
54. Brown, M.R.; Camézuli, S.; Davenport, R.J.; Petelenz-Kurdiel, E.; Øvreås, L.; Curtis, T.P. Flow cytometric quantification of viruses in activated sludge. *Water Res.* 2015, 68, 414–422
55. Bruniger, S., et al. (2000). Further studies on thermal resistance of bovine parvovirus. *Journal of Virological Methods*, 86(3), 499–504. <https://doi.org/10.1128/jb.86.3.499-504.1963>
56. Bu, H., Tan, X., Li, S. and Zhang, Q. (2010). Water quality assessment of the Jinshui River (China) using multivariate statistical techniques. *Environ Earth Sci.* 60, 1631–1639.
57. Cabelli, V. J.; Dufour, A. P.; McCabe, L. J. and Levin, M. A. (1983). A marine recreational water quality criterion consistent with indicator concepts and risk analysis. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 1306–1314.
58. Calgua, B., Fumian, T., Rusinó, M., Rodríguez-Manzano, J., Mbayed, V.A., Bofill-Mas, S., Miagostovich, M., Girones, R., 2013. Detection and quantification of classic and emerging viruses by skimmed-milk flocculation and PCR in riverwater from two geographical areas. *Water Res.* 47, 2797e2810. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.02.043>
59. Calgua, B.; Barardi, C.R.; Bofill-Mas, S.; Rodríguez-Manzano, J.; Girones, R. Detection and quantitation of infectious human adenoviruses and JC polyomaviruses in water by immunofluorescence assay. *J. Virol. Methods* 2011, 171, 1–7.
60. Calgua, B.; Mengewein, A.; Grunert, A.; Bofill-Mas, S.; Clemente-Casares, P.; Hundesa, A.; Wyn-Jones, A.P.; López-Pila, J.M.; Girones, R. Development and application of a one-step low cost procedure to concentrate viruses from seawater samples. *J. Virol. Methods* 2008, 153, 79–83.

61. Campos C, Green J, Lees D. Persistence of norovirus in the marine environment. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(9):2957–2962. doi:10.1128/AEM.03992-13
62. Cancela, F. , Ramos N., Smyth D. S., et al. 2023. “Wastewater Surveillance of SARS-CoV-2 Genomic Populations on a Country-Wide Scale Through Targeted Sequencing.” *PLoS One* 18: e0284483.
63. Capai L, Charrel R, Falchi A. Hepatitis E in high-income countries: What do we know? and what are the knowledge gaps? *Viruses.* 2018;10:285. doi: 10.3390/v10060285.
64. Carducci, A., Verani, M., 2013. Effects of bacterial, chemical, physical and meteorological variables on virus removal by a wastewater treatment plant. *Food Environ. Virol.* 5, 69e76. <https://doi.org/10.1007/s12560-013-9105-5>.
65. Cashdollar, J.L., Wymer, L., 2013. Methods for primary concentration of viruses from water samples: a review and meta-analysis of recent studies. *J. Appl. Microbiol.* 115, 1e11
66. Chang, S. Y., & Lee, H. J. (1971). Resistance of enteric viruses to proteolytic enzymes. *Applied Microbiology*, 22(5), 898–901. <https://doi.org/10.1128/am.22.5.898-901.1971>
67. Chatziprodromidou I.P., Bellou M., Vantarakis G., Vantarakis A. Viral outbreaks linked to fresh produce consumption: A systematic review. *J. Appl. Microbiol.* 2018;124:932–942. doi: 10.1111/jam.13747.
68. Chaudhry, R.M.; Nelson, K.L.; Drewes, J.E. Mechanisms of pathogenic virus removal in a full-scale membrane bioreactor. *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49, 2815–2822.
69. Chen, C.-H. , Hsu B.-M., and Wan M.-T.. 2008. “Molecular Detection and Prevalence of Enterovirus Within Environmental Water in Taiwan.” *Journal of Applied Microbiology* 104: 817–823.
70. Chen, M.-J. , Lin C.-Y., Wu Y.-T., Wu P.-C., Lung S.-C., and Su H.-J.. 2012. “Effects of Extreme Precipitation to the Distribution of Infectious Diseases in Taiwan, 1994–2008.” *PLoS One* 7: e34651.
71. Cheung MC, Maguire J, Carey I, Wendon J, Agarwal K. Review of the neurological manifestations of hepatitis E infection. *Annals of Hepatology.* 2012;11:618–622. doi: 10.1016/S1665-2681(19)31434-6.
72. Chitambar S., Gopalkrishna V., Chhabra P., Patil P., Verma H., Lahon A., et al. (2012). Diversity in the enteric viruses detected in outbreaks of gastroenteritis from Mumbai, Western India. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 9, 895–915. doi: 10.3390/ijerph9030895, PMID:

73. Cinek, O., Mazankova, K., Kramna, L., Odeh, R., Alassaf, A., Ibekwe, M.A.U., Ahmadov, G., Mekki, H., Abdullah, M.A., Elmahi, B.M.E., Hy  oty, H., Rainetova, P., 2018. Quantitative CrAssphage real-time PCR assay derived from data of multiple geographically distant populations. *J. Med. Virol.* 90, 767e771. <https://doi.org/10.1002/jmv.25012>
74. Cliver, D. O., & Herrmann, J. E. (1972). Proteolytic and microbial inactivation of enteroviruses. *Water Research*, 6(7), 797–805. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(72\)90072-7](https://doi.org/10.1016/0043-1354(72)90072-7)
75. Cole, D.; Long, S. C. and Sobsey, M. D. (2003). Evaluation of F+ RNA and DNA coliphages as source-specific indicators of fecal contamination in surface waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(11): 6507–6514.
76. Collier, M. G., Khudyakov, Y. E., Selvage, D., Adams-Cameron, M., Chiepson, E., Cronquist, A., ... Teshale, E. H. (2014). Outbreak of hepatitis A associated with frozen pomegranate arils imported from Turkey — United States, 2013. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63(50), 1115–1118.
77. Cook, N., Bridger, J., Kendall, K., Gomara, M.I., El-Attar, L., Gray, J., 2004. The zoonotic potential of rotavirus. *J. Infect.* 48 (4), 289e302. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2004.01.018>.
78. Cooksley WG, Habib AG, Aggarwal R. Large outbreaks of hepatitis A associated with food consumption in Shanghai, China. *J Med Virol.* 2000;61(2):171–178. doi:10.1002/(SICI)1096-9071(200002)61:2<171::AID-JMV11>3.0.CO;2-Y
79. Corpuz, M.V.A.; Buonerba, A.; Vigliotta, G.; Zarra, T.; Ballesteros, F.; Campiglia, P.; Belgiorio, V.; Korshin, G.; Naddeo, V. Viruses in wastewater: Occurrence, abundance and detection methods. *Sci. Total Environ.* 2020, 745, 140910.
80. Crance, J.M., et al. (1998). Heat inactivation of enteric viruses in dewatered wastewater sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(3), 1184–1188. <https://doi.org/10.1128/aem.64.3.1184-1188.1998>
81. Crank, K., Petersen, S., Bibby, K., 2019. Quantitative microbial risk assessment of swimming in sewage impacted waters using CrAssphage and pepper mild mottle virus in a customizable model. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 6, 571e577. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00468>.
82. Crank K., Li X., North D., Ferraro G.B, Iaconelli M., Mancini P., La Rosa G., Bibby K., CrAssphage abundance and correlation with molecular viral markers in Italian wastewater *Water Res.*, 184 (2020)

83. Craun, G. F., Brunkard, J. M., Yoder, J. S., Roberts, V. A., Carpenter, J., Wade, T., Calderon, R. L., Roberts, J. M., Beach, M. J., & Roy, S. L. (2010). Causes of outbreaks associated with drinking water in the United States from 1971 to 2006. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), 507–528. <https://doi.org/10.1128/CMR.00077-09>
84. Crawford, S. E., Ramani, S., Tate, J. E., Parashar, U. D., Svensson, L., Hagbom, M., ... & Estes, M. K. (2017). Rotavirus infection. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 17083. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.83>
85. Crini, G.; Lichtfouse, E. Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. *Environ. Chem. Lett.* 2019, 17, 145–155
86. Cromeans, T.L., Kahler, A.M., Hill, V.R., 2010. Inactivation of adenoviruses, entero-viruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 1028e1033. <https://doi.org/10.1128/AEM.01342-09>.
87. Curriero, F. C. , Patz J. A., Rose J. B., and Lele S.. 2001. “The Association Between Extreme Precipitation and Waterborne Disease Outbreaks in the United States, 1948–1994.” *American Journal of Public Health* 91: 1194–1199.
88. De Giglio, O.; Caggiano, G.; Bagordo, F.; Barbuti, G.; Brigida, S.; Lugoli, F.; Grassi, T.; La Rosa, G.; Lucentini, L. and Uricchio, V. F. (2017). Enteric viruses and fecal bacteria indicators to assess groundwater quality and suitability for irrigation. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 14(6): 558.
89. de Graaf M, van Beek J, Koopmans M. Human norovirus transmission and evolution in a changing world. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(7):421–433. doi:10.1038/nrmicro.2016.48
90. Devane, M. L.; Moriarty, E. M.; Wood, D.; Webster-Brown, J. and Gilpin, B. J. (2014). The impact of major earthquakes and subsequent sewage discharges on the microbial quality of water and sediments in an urban river. *Sci. Total Environ.*, 485, 666–680.
91. Dhar, B.C., Lee, N.Y., 2018. Lab-on-a-Chip Technology for environmental monitoring of microorganisms. *Biochip J* 12, 173e183. <https://doi.org/10.1007/s13206-018-2301-5>
92. Dias, E., Ebdon, J., Taylor, H., 2018a. The application of bacteriophages as novel in-dicators of viral pathogens in wastewater treatment systems. *Water Res.* 129, 172 e179. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.022>.

93. Dixon A M, D Butle, A Fewkes (1999) Guidelines for greywa-ter re-use: Health issues. *Journal of the Chartered Institution of Water and Environmental Management*, 13:322-326.
94. Dlusskaya, E.; Dey, R.; Pollard, P.C.; Ashbolt, N.J. Outer Limits of Flow Cytometry to Quantify Viruses in Water. *ACS EST Water* 2021, 1, 1127–1135.
95. Domagala, K.; Jacquin, C.; Borlaf, M.; Sinnet, B.; Julian, T.; Kata, D.; Graule, T. Efficiency and stability evaluation of Cu(2)O/MWCNTs filters for virus removal from water. *Water Res.* 2020, 179, 115879.
96. Dufour, A. P. (1984). Health effects criteria for fresh recreational waters.
97. Dufva, M. Fabrication of high quality microarrays. *Biomol. Eng.* 2005, 22, 173–184.
98. Duizer E., Schwab K.J., Neill F.H., Atmar R.L., Koopmans M.P., Estes M.K. (2004). Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *Journal of General Virology*, 85: 79–87.
99. Dulfour Alfred P, Ballentine A R K. Ambient water quality criteria for bacteria-1986. United States Environmental Protection Agency; 1986.
100. Dziuban, C. D., Liang, J. L., Craun, G. F., Hill, V., Yu, P. A., Painter, J., Moore, M. R., Calderon, R. L., & Beach, M. J. (2006). Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with recreational water—United States, 2003–2004. *MMWR Surveillance Summaries*, 55(SS12), 1–30.
101. E. Ballesté, M. Pascual-Benito, J. Martín-Díaz, A. Blanch, F. Lucena, M. Muniesa, J. Jofre, C. HDynamics of crAssphage as a human source tracking marker in potentially faecally polluted environments *Water Res.*, 155 (2019)
102. E. Dias, J. Ebdon, H. Taylor The application of bacteriophages as novel indicators of viral pathogens in wastewater treatment systems *Water Res.*, 129 (2018)
103. E. Stachler, K. Bibby Metagenomic evaluation of the highly abundant human gut bacteriophage CrAssphage for source tracking of human fecal pollution *Environ. Sci. Technol. Lett.*, 1 (10) (2014)
104. Ebdon, J., Muniesa, M., Taylor, H., 2007. The application of a recently isolated strainof *Bacteroides* (GB-124) to identify human sources of faecal pollution in atemperate river catchment. *Water Res.* 41, 3683e3690. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.12.020>

105. Elbashir MI, Hetherington S, Song Y, et al. Foodborne outbreaks of hepatitis A virus in the United States linked to imported produce. *Food Environ Virol.* 2018;10(2):119–129. doi:10.1007/s12560-018-9322-1
106. Elmahdy, E.M., Ahmed, N.I., Shaheen, M.N.F., Mohamed, E.-C.B., Loutfy, S.A., 2019. Molecular detection of human adenovirus in urban wastewater in Egypt and among children suffering from acute gastroenteritis. *J. Water Health* 1e8. K. Farkas et al. / *Water Research* 181 (2020) 115926 15
107. Elmahdy, E.M., Ahmed, N.I., Shaheen, M.N.F., Mohamed, E.-C.B., Loutfy, S.A., 2019. Molecular detection of human adenovirus in urban wastewater in Egypt and among children suffering from acute gastroenteritis. *J. Water Health* 1e8. K. Farkas et al. / *Water Research* 181 (2020) 115926 15 <https://doi.org/10.2166/wh.2019.303>.
108. Eloffy, M.G.; El-Sherif, D.M.; Abouzid, M.; Elkodous, M.A.; El-nakhas, H.S.; Sadek, R.F.; Ghorab, M.A.; Al-Anazi, A.; El-Sayyad, G.S. Proposed approaches for coronaviruses elimination from wastewater: Membrane techniques and nanotechnology solutions. *Nanotechnol. Rev.* 2022, 11, 1–25.
109. El-Senousy, W.M., Osman, G.A., Melegy, A.A., 2014. Survival of adenovirus, rotavirus, Hepatitis A virus, pathogenic bacteria and bacterial indicators in ground water. *World Appl. Sci. J.* 29, 337e348. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2014.29.03.13849>.
110. Enriquez, C.E., Hurst, C.J., Gerba, C.P., 1995. Survival of the enteric adenoviruses 40 and 41 in tap, sea, and waste water. *Water Res.* 29, 2548e2553. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(95\)00070-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(95)00070-2)
111. EPA. (2011). Risk-Based Framework for Developing Microbial Treatment Targets for Water Reuse. U.S. Environmental Protection Agency. Ανακτήθηκε από: <https://www.epa.gov/system/files/documents/2025-01/risk-basedframeworkfordevelopingmicrobialtreatmenttargetsforwaterreuse-1.pdf>
112. EPA. Environmental Protection Agency (2012). Recreational water quality criteria. EPA-820-F-12-058. In US. Washington, DC: USEPA.
113. Erster, O., Bar-Or I., Levy V., et al. 2022. “Monitoring of Enterovirus D68 Outbreak in Israel by a Parallel Clinical and Wastewater Based Surveillance.” *Viruses* 14: 1010.
114. Espinosa, A. C.; Mazari-Hiriart, M.; Espinosa, R.; Maruri-Avidal, L.; Méndez, E. and Arias, C. F. (2008). Infectivity and genome persistence

- of rotavirus and astrovirus in groundwater and surface water. *Water Res.*, 42(10–11): 2618–2628
115. e-synews.gr (2021). Τα μεγάλα αστικά κέντρα προκαλούν μόλυνση των υδάτων. <https://www.e-synews.gr/2021/01/27/ta-megala-astika-kentra-prokaloy-n-molynsi-ton-ydaton/>
 116. F.J. Simmons, D.H.W. Kuo, I. Xagorarakis Removal of human enteric viruses by a full-scale membrane bioreactor during municipal wastewater processing *Water Res.*, 45 (9) (2011)
 117. Falender, R. 2025. “Avian Influenza A(H5) Subtype in Wastewater — Oregon, September 15, 2021–July 11, 2024.” *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 74, no. 6: 102–106. 10.15585/mmwr.mm7406a5.
 118. Fall C, C M Lopez Vazquez, M C Jimenez Moleon, C Diaz Delgado, D Garcia Pulido, et al. (2007) Carwash wastewaters: characteristics, volumes and treatability by gravity oil separation. *Revista Mexicana De Ingenieria Quimica*, 6:175-184.
 119. Farkas, K., Adriaenssens, E.M., Walker, D.I., McDonald, J.E., Malham, S.K., Jones, D.L., David, S., Walker, I., McDonald, J.E., Malham, S.K., Davey, S., Jones, L., 2019. Critical evaluation of crAssphage as a molecular marker for human-derived wastewater contamination in the aquatic environment. *Food Environ. Virol.* 11, 113e119. <https://doi.org/10.1007/s12560-019-09369-1>.
 120. Farkas, K., Cooper, D.M., McDonald, J.E., Malham, S.K., de Rougemont, A., Jones, D.L., Rougemont, A. de, Jones, D.L., de Rougemont, A., Jones, D.L., 2018a. Seasonal and spatial dynamics of enteric viruses in wastewater and in riverine and estuarine receiving waters. *Sci. Total Environ.* 634, 1174e1183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.038>.
 121. Farkas, K., Hassard, F., McDonald, J.E., Malham, S.K., Jones, D.L., 2017a. Evaluation of molecular methods for the detection and quantification of pathogen-derived nucleic acids in sediment. *Front. Microbiol.* 8, 53. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00053>
 122. Farkas, K.; McDonald, J.E.; Malham, S.K.; Jones, D.L. Two-Step Concentration of Complex Water Samples for the Detection of Viruses. *Methods Protoc.* 2018, 1, 35.
 123. Farkas K., Walker D.I., Adriaenssens E.M., McDonald J.E., Hillary L.S., Malham S.K., Jones D.L., Viral indicators for tracking domestic wastewater contamination in the aquatic environment *Water Res.* (2020)
 124. Farkas K., Adriaenssens E.M., Walker D.I., McDonald J.E., Malham S.K., Jones D.L. Critical evaluation of CrAssphage as a molecular marker for

human-derived wastewater contamination in the aquatic environment *Food Environ. Virol.*, 11 (2) (2019)

125. Fattal, B., Vasl, R.J., Katzenelson, E., Shuval, H.I., 1983. Survival of bacterial indicatororganisms and enteric viruses in the Mediterranean coastal waters off Tel-Aviv. *Water Res.* 17, 397e402. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(83\)90135-5](https://doi.org/10.1016/0043-1354(83)90135-5)
126. Fernandez-Cassi X., Timoneda N., Martínez-Puchol S., Rusinol M., Rodriguez-Manzano J., Figuerola N., et al. (2018). Metagenomics for the study of viruses in urban sewage as a tool for public health surveillance. *Sci. Total Environ.* 618, 870–880. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.249
127. Flannery, J., Keaveney, S., Rajko-Nenow, P., O’Flaherty, V., Doran, W., 2013. Norovirus and FRNA bacteriophage determined by RT-qPCR and infectious FRNA bacteriophage in wastewater and oysters. *Water Res.* 47, 5222e5231. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.008>
128. Flannery, J., Keaveney, S., Rajko-Nenow, P., O’Flaherty, V., Doran, W., 2013. Norovirus and FRNA bacteriophage determined by RT-qPCR and infectious FRNA bacteriophage in wastewater and oysters. *Water Res.* 47, 5222e5231. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.008>
129. Fong, T. T., Phanikumar, M. S., Xagoraki, I., & Rose, J. B. (2010). Quantitative detection of human adenoviruses in wastewater and combined sewer overflows influencing a Michigan river. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(3), 715–723. <https://doi.org/10.1128/AEM.01316-09>
130. Fong, T.T., Griffin, D.W., Lipp, E.K., 2005. Molecular assays for targeting human and bovine enteric viruses in coastal waters and their application for library independent source tracking. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 2070e2078. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.2070-2078.2005>.
131. Fong, T.T., Phanikumar, M.S., Xagoraki, I., Rose, J.B., 2010. Quantitative detection of human adenoviruses in wastewater and combined sewer overflows influencing a Michigan river. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 715e723. <https://doi.org/10.1128/AEM.01316-09>
132. Fongaro, G., Do Nascimento, M.A., Rigotto, C., Ritterbusch, G., da Silva, A.D., Esteves, P.A., Barardi, C.R.M., 2013. Evaluation and molecular characterization of human adenovirus in drinking water supplies: viral integrity and viability assays. *Virol. J.* 10, 1.
133. Fujioka, R. S., Loh, P. C., & Lau, L. S. (1980). Survival of human enteroviruses in the Hawaiian ocean environment: Evidence for virus-inactivating microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(6), 1105–1110. <https://doi.org/10.1128/AEM.39.6.1105-1110.1980>

134. Fujioka, R., & Yoneyama, B. (2002). Inactivation of enteric viruses in seawater by sunlight. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4478–4482.
135. Fujsaki (1978). Inactivation of enteric viruses by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(2), 364–368. <https://doi.org/10.1128/AEM.35.2.364-368.1978>
136. Fumian, T.M.; Leite, J.P.; Castello, A.A.; Gaggero, A.; Caillou, M.S.; Miagostovich, M.P. Detection of rotavirus A in sewage samples using multiplex qPCR and an evaluation of the ultracentrifugation and adsorption-elution methods for virus concentration. *J. Virol. Methods* 2010, 170, 42–46.
137. Gallimore, C. I., Green, J., Lewis, D., Richards, A. F., & Lopman, B. A. (2005). Diversity of noroviruses cocirculating in the north of England from 1998 to 2001. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(1), 321–329. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.1.321-329>
138. Garcia, A.; Le, T.; Jankowski, P.; Yanaç, K.; Yuan, Q. and Uyaguari-Diaz, M. I. (2022). Quantification of human enteric viruses as alternative indicators of fecal pollution to evaluate wastewater treatment processes. *PeerJ*, 10, e12957.
139. García-Aljaro, C., Ballesta, E., Muniesa, M., Jofre, J., 2017. Determination of crAss-phage in water samples and applicability for tracking human faecal pollution. *Microb. Biotechnol.* 10, 1775e1780. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12841>.
140. Gentry-Shields J, Myers K, Pisanic N, Heaney C, Stewart J. Hepatitis E virus and coliphages in waters proximal to swine concentrated animal feeding operations. *Science of the Total Environment*. 2015;505:487–493. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.10.004.yre
141. Gerba, C. P.; Goyal, S. M.; LaBelle, R. L.; Cech, I. and Bodgan, G. F. (1979). Failure of indicator bacteria to reflect the occurrence of enteroviruses in marine waters. *Am. J. Public Health*, 69(11): 1116–1119.
142. Gerba, C. P. (1987). Phage as indicators of fecal pollution. *Phage Ecol*.
143. Gerba, C. P. (1999). Virus survival and transport in groundwater. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 22(4–5), 535–539. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900663>
144. Gerba, C. P. (2006). Survival of Viruses in the Marine Environment. Κεφάλαιο σε βιβλίο: *Survival of Viruses in the Marine Environment* (2016).

145. Gerba, C.P., et al. (2002). Virus inactivation by UV light and DNA repair mechanisms. *Water Research*, 36(20), 547–556. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00245-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00245-0)
146. Gholipour S., Ghalhari M.R., Nikaeen M., Rabbani D., Pakzad P., Miranzadeh M.B. Occurrence of viruses in sewage sludge: A systematic review. *Sci. Total Environ.* 2022;824:153886. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153886.
147. Gilgen M, von Bonsdorff CH, Maunula L, et al. Norovirus outbreaks in Finland, 1990–1995. *J Med Virol.* 1997;51(4):289–295. doi:10.1002/(SICI)1096-9071(199712)51:4<289::AID-JMV5>3.0.CO;2-W
148. Girones, R., Ferrus, M.A., Alonso, J.L., Rodriguez-Manzano, J., Calgua, B., de AbreuCorrea, A., Hundesa, A., Carratala, A., Bofill-Mas, S., 2010. Molecular detection of pathogens in water: the pros and cons of molecular techniques. *Water Res.* 44, 4325–4339
149. Godyń I., Muszyński K., Grela A. Assessment of the Impact of Loss-of-Retention Fees on Green Infrastructure Investments. *Water.* 2022;14:560. doi: 10.3390/w14040560.
150. Gonzales-Gustavson, E.; Cárdenas-Youngs, Y.; Calvo, M.; da Silva, M.F.M.; Hundesa, A.; Amorós, I.; Moreno, Y.; Moreno-Mesonero, L.; Rosell, R.; Ganges, L.; et al. Characterization of the efficiency and uncertainty of skimmed milk flocculation for the simultaneous concentration and quantification of water-borne viruses, bacteria and protozoa. *J. Microbiol. Methods* 2017, 134, 46–53
151. Goyal, S. M., Gerba, C. P., & Melnick, J. L. (1978). Survival of enteric viruses in the environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(5), 1074–1078. <https://doi.org/10.1128/AEM.35.5.1074-1078.1978>
152. Greening, G. E. and Cannon, J. L. (2016). Human and animal viruses in food (including taxonomy of enteric viruses). In *Viruses in foods* (pp. 5–57). Springer.
153. Grøndahl-Rosado, R.C., Yarovitsyna, E., Trettenes, E., Myrmel, M., Robertson, L.J., 2014b. A one year study on the concentrations of norovirus and enteric adenoviruses in wastewater and a surface drinking water source in Norway. *Food Environ. Virol.* 6, 232–245. <https://doi.org/10.1007/s12560-014-9161-5>
154. Gundry S, Wright J, Conroy R. A systematic review of the health outcomes related to household water quality in developing countries. *Journal of Water and Health.* 2004;2(1):1-13.

155. Guo, B.; Pasco, E.V.; Xagorarakis, I.; Tarabara, V.V. Virus removal and inactivation in a hybrid microfiltration–UV process with a photocatalytic membrane. *Sep. Purif. Technol.* 2015, 149, 245–254.
156. Gyawali, P., Croucher, D., Ahmed, W., Devane, M., Hewitt, J., 2019a. Evaluation of pepper mild mottle virus as an indicator of human faecal pollution in shellfish and growing waters. *Water Res.* 154, 370e376. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.02.003>.
157. Haas CN, Rose JB, Gerba C, Regli S. Risk assessment of virus in drinking water. *Risk Anal.* 1993;13:545–552. doi: 10.1111/j.1539-6924.1993.tb00013.x.
158. Haas, J.B. Rose, C.P. Gerba *Quantitative Microbial Risk Assessment* Wiley, New York, NY (1999) Google Scholar
159. Habib, M., Zare, M., & Karami, M. (2021). Assessment of rotavirus infection in hospitalized children under five years of age with acute watery diarrhea in Iran. *Journal of Pediatric Infectious Diseases*, 16(1), 1–7. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1735227>
160. Hakim MS, Wang W, Bramer WM, Geng J, Huang F, de Man RA, Peppelenbosch MP, Pan Q. The global burden of hepatitis E outbreaks: A systematic review. *Liver International.* 2017;37:19–31. doi: 10.1111/liv.13237.
161. Hamza, I. A.; Jurzik, L.; Stang, A.; Sure, K.; Überla, K. and Wilhelm, M. (2009). Detection of human viruses in rivers of a densely-populated area in Germany using a virus adsorption elution method optimized for PCR analyses. *Water Res.*, 43(10): 2657–2668.
162. Hamza, I.A., Jurzik, L., Überla, K., Wilhelm, M., 2011. Evaluation of pepper mild mottle virus, human picobirnavirus and Torque teno virus as indicators of fecal contamination in river water. *Water Res.* 45, 1358e1368. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.02>
163. Hamza, I.A., Jurzik, L., Überla, K., Wilhelm, M., 2011. Evaluation of pepper mild mottle virus, human picobirnavirus and Torque teno virus as indicators of fecal contamination in river water. *Water Res.* 45, 1358e1368. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.021>.
164. Hamza, I.A., Jurzik, L., Wilhelm, M., Überla, K., Überla, K., 2009b. Detection and quantification of human bocavirus in river water. *J. Gen. Virol.* 90, 2634e2637. <https://doi.org/10.1099/vir.0.013557-0>
165. Haramoto, E., Kitajima, M., 2017. Quantification and genotyping of Aichi virus 1 in water samples in the Kathmandu Valley, Nepal. *Food Environ. Virol.* 9, 350e353. <https://doi.org/10.1007/s12560-017-9283-7>

166. Haramoto, E., Kitajima, M., Hata, A., Torrey, J.R., Masago, Y., Sano, D., Katayama, H., 2018. A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. *Water Res.* 135, 168e186. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.004>.
167. Haramoto, E., Kitajima, M., Kishida, N., Konno, Y., Katayama, H., Asami, M., Akiba, M., 2013. Occurrence of pepper mild mottle virus in drinking water sources in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 7413e7418. <https://doi.org/10.1128/AEM.02354-13>.
168. Harwood, V. J.; Levine, A. D.; Scott, T. M.; Chivukula, V.; Lukasik, J.; Farrah, S. R. and Rose, J. B. (2005). Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(6): 3163–3170.
169. Hassard, F. , Bajón-Fernández Y., and Castro-Gutierrez V.. 2023. “Wastewater-Based Epidemiology for Surveillance of Infectious Diseases in Healthcare Settings.” *Current Opinion in Infectious Diseases* 36: 288–295.ce
170. Hata, A., Hanamoto, S., Shirasaka, Y., Yamashita, N., Tanaka, H., 2016. Quantitative distribution of infectious F-Specific RNA phage genotypes in surface waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 4244e4252. <https://doi.org/10.1128/aem.00621-16>.
171. Hata, A., Katayama, H., Kitajima, M., Visvanathan, C., Nol, C., Furumai, H., 2011. Validation of internal controls for extraction and amplification of nucleic acids from enteric viruses in water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 77 <https://doi.org/10.1128/AEM.00077-11>, 4336 LP e4343.
172. Hata, A.; Kitajima, M. and Katayama, H. (2013). Occurrence and reduction of human viruses, F-specific RNA coliphage genogroups and microbial indicators at a full-scale wastewater treatment plant in Japan. *J. Appl. Microbiol.*, 114(2): 545–554.
173. Hata, H. Katayama, K. Kojima, S. Sano, I. Kasuga, M. Kitajima, H. Furumai Effects of rainfall events on the occurrence and detection efficiency of viruses in river water impacted by combined sewer overflows *Sci. Total Environ.*, 468 (2014)
174. Havelaar, A. H.; Van Olphen, M. and Drost, Y. C. (1993). F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(9): 2956–2962.
175. Hernroth, B.E., Conden-Haasson, A.-C., Rehnstam-Holm, A.-S., Girones, R., Allard, A.K., 2002. Environmental factors influencing human viral pathogens and their potential indicator organisms in the blue mussel,

- (*Mytilus edulis*): the first Scandinavian report. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 4523 LP e4533
176. Hewitt J., Bell D., Simmons G.C., Rivera-Aban M., Wolf S., Greening G.E. (2007). Gastroenteritis Outbreak Caused by Waterborne Norovirus at a New Zealand Ski Resort.
 177. Hewitt, J., Leonard, M., Greening, G.E., Lewis, G.D., 2011. Influence of wastewater treatment process and the population size on human virus profiles in waste-water. *Water Res.* 45, 6267e6276. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.029>
 178. Hijnen, W.A.M., Beerendonk, E.F., Medema, G.J., 2006. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review. *Water Res.* 40, 3e22. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.030>.
 179. Hu Y, Chen J, Xu B. Global prevalence of hepatitis A virus infection and prevention strategies: a systematic review. *Virol J.* 2018;15:70.
 180. Iaconelli, M., Divizia, M., Della Libera, S., Di Bonito, P., La Rosa, G., 2016. Frequent detection and genetic diversity of human bocavirus in urban sewage samples. *Food Environ. Virol.* 8, 289e295. <https://doi.org/10.1007/s12560-016-9251-7>
 181. Iaconelli, M.; Valdazo-González, B.; Equestre, M.; Ciccaglione, A.R.; Marcantonio, C.; Della Libera, S.; La Rosa, G. Molecular characterization of human adenoviruses in urban wastewaters using next generation and Sanger sequencing. *Water Res.* 2017, 121, 240–247.
 182. Ibarluzea, J. M.; Moreno, B.; Serrano, E.; Larburu, K.; Maiztegi, M. J.; Yarzabal, A. and Santa Marina, L. (2007). Somatic coliphages and bacterial indicators of bathing water quality in the beaches of Gipuzkoa, Spain. *J. Water Health*, 5(3): 417–426
 183. Inobeme, A; Mathew, JT; Adetunji, CO; Ajai, A.I; Inobeme, J; Maliki, M; Okonkwo, S; Adekoya, MA; Bamigboye, MO; Jacob, JO; Eziukwu, CA. (2023)a. Recent advances in nanotechnology for remediation of heavy metals. *Environm. Monit. Assess.*; 195(111): 1-24. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10614-7>.
 184. Ishii, S., Kitamura, G., Segawa, T., Kobayashi, A., Miura, T., Sano, D., Okabe, S., 2014. Microfluidic quantitative PCR for simultaneous quantification of multiple viruses in environmental water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 80 <https://doi.org/10.1128/AEM.02578-14>, 7505 LP e7511

185. Ishii, S.; Ksoll, W. B.; Hicks, R. E. and Sadowsky, M. J. (2006). Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(1): 612–621.
186. Jalan, J., and Ravallion, M. (2003). Does Piped Water Reduce Diarrhea for Children in Rural India? *J. Econ.* 112 (1), 153–173. doi:10.1016/s0304-4076(02)00158-6
187. Jin, Y., Flury, M., 2002. Fate and transport of viruses in porous media. *Adv. Agron.* 77, 39–102. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(02\)77013-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77013-2)
188. Jonnalagadda, S., Haran, M., Kumar, A., Reddy, A., & Haran, A. (2017). Clinical profile of adenoviral pneumonia in children. *International Journal of Contemporary Pediatrics*, 4(5), 1671–1675. <https://doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20173785>
189. Jorgenson AK. Foreign direct investment and the environment, the mitigating influence of institutional and civil society factors, and relationships between industrial pollution and human health: A panel study of less-developed countries. *Organization & Environment*. 2009;22(2): 135–157. Available: <https://doi.org/10.1177/1086026609338163>
190. Jorgenson, A. K. (2009). Foreign Direct Investment and the Environment, the Mitigating Influence of Institutional and Civil Society Factors, and Relationships between Industrial Pollution and Human Health. *Organ. Environ.* 22 (2), 135–157. doi:10.1177/1086026609338163
191. Julian, T. R., Islam, M. A., Pickering, A. J., Roy, S., Fuhrmeister, E. R., Ercumen, A., ... & Nelson, K. L. (2016). Genotypic and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolated from houseflies in Mirzapur, Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(13), 3712–3720. <https://doi.org/10.1128/AEM.00559-16>
192. Kaas, L., Ogorzaly, L., Lecellier, G., Berteaux-Lecellier, V., Cauchie, H.-M., Langlet, J., 2018. Detection of human enteric viruses in French Polynesian wastewaters, environmental waters and giant clams. *Food Environ. Virol.* 11 (1), 52–64. <https://doi.org/10.1007/s12560-018-9358-0>
193. Kamar N, Weclawiak H, Guilbeau-Frugier C, Legrand-Abravanel F, Cointault O, Ribes D, Esposito L, Cardeau-Desangles I, Guitard J, Sallusto F, Muscari F, Peron JM, Alric L, Izopet J, Rostaing L. Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. *Transplantation*. 2012;93:617–623. doi: 10.1097/TP.0b013e318245f14c.

194. Kapuscinski, R., & Mitchell, R. (1980). Virus survival in fresh and salt water. In *Water Microbiology* (pp. XX–XX). Academic Press.
195. Kargar, M.; Javdani, N.; Najafi, A.; Tahamtan, Y. First molecular detection of group A rotavirus in urban and hospital sewage systems by nested-RT PCR in Shiraz, Iran. *J. Environ. Health Sci. Eng.* 2013, 11, 4.
196. Khanal, S., Ghimire, P., & Dhamoon, A. S. (2018). The rise of adenovirus infections in immunocompromised patients. *Infectious Disease Reports*, 10(3), 43–50. <https://doi.org/10.4081/idr.2018.7570>
197. Kim, J.P.; Kim, J.H.; Kim, J.; Lee, S.N.; Park, H.O. A nanofilter composed of carbon nanotube-silver composites for virus removal and antibacterial activity improvement. *J. Environ. Sci.* 2016, 42, 275–283
198. Kim, W.J., Managaki, S., Furumai, H., Nakajima, F., 2009. Diurnal fluctuation of indicator microorganisms and intestinal viruses in combined sewer system. *Water Sci. Technol.* 60, 2791e2801. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.732>. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. In: King, A.M.Q.,
199. Kishida, N., Morita, H., Haramoto, E., Asami, M., Akiba, M., 2012. One-year weekly survey of noroviruses and enteric adenoviruses in the Tone River water in Tokyo metropolitan area. *Japan. Water Res.* 46 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.010>
200. Kishida, N., Noda, N., Haramoto, E., Kawaharasaki, M., Akiba, M., Sekiguchi, Y., 2014. Quantitative detection of human enteric adenoviruses in river water by microfluidic digital polymerase chain reaction. *Water Sci. Technol.* 70 <https://doi.org/10.2166/wst.2014.262>.
201. Kitajima, M., Gerba, C., 2015. Aichi virus 1: environmental occurrence and behavior. *Pathogens* 4, 256e268. <https://doi.org/10.3390/pathogens4020256>.
202. Kitajima, M., Gerba, C., 2015. Aichi virus 1: environmental occurrence and behavior. *Pathogens* 4, 256e268. <https://doi.org/10.3390/pathogens4020256>.
203. Kitajima, M., Hata, A., Yamashita, T., Haramoto, E., Minagawa, H., Katayama, H., 2013. Development of a reverse transcription-quantitative PCR system for detection and genotyping of Aichi viruses in clinical and environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 3952 LP e3958.
204. Kitajima, M., Rachmadi, A.T., Iker, B.C., Haramoto, E., Gerba, C.P., 2018a. Temporal variations in genotype distribution of human sapoviruses and Aichi virus 1 in wastewater in Southern Arizona, United States. *J. Appl. Microbiol.* 124, 1324e1332. <https://doi.org/10.1111/jam.13712>.

205. Kitajima, M., Sassi, H.P., Torrey, J.R., 2018b. Pepper mild mottle virus as a waterquality indicator. *npj Clean Water* 1, 19. <https://doi.org/10.1038/s41545-018-0019-5>.
206. Kitajima, M., Sassi, H.P., Torrey, J.R., 2018b. Pepper mild mottle virus as a waterquality indicator. *npj Clean Water* 1, 19. <https://doi.org/10.1038/s41545-018-0019-5>
207. Kiulia, N.M.; Gonzalez, R.; Thompson, H.; Aw, T.G.; Rose, J.B. Quantification and Trends of Rotavirus and Enterovirus in Untreated Sewage Using Reverse Transcription Droplet Digital PCR. *Food Environ. Virol.* 2021, 13, 154–169
208. Knight, A., Li, D., Uyttendaele, M., Jaykus, L.-A., 2013. A critical review of methods for detecting human noroviruses and predicting their infectivity. *Crit. Rev. Micro-biol.* 39, 295e309. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.709820>.
209. Kocwa-Haluch, R. (2001). Waterborne enteroviruses as a hazard for human health. *Polish J. Environ. Stud.*, 10(6): 485–488.
210. Koff RS, Lemon SM, Margolis HS. Hepatitis A virus. In: *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 870–910.
211. Koopmans, M. and Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *Int. J. Food Microbiol.*, 90(1): 23–41
- Koul, B; Yadav, D; Singh, S; Kumar, M; Song, M. (2022). Insights into the Domestic Wastewater Treatment (DWWT) Regimes: A Review. *Water*, 14: 3542. <https://doi.org/10.3390/w14213542>
212. Kukula, M., Maunula, L., Silvennoinen, E., & von Bonsdorff, C. H. (1999). Outbreak of viral gastroenteritis due to drinking water contaminated by Norwalk-like viruses. *The Journal of Infectious Diseases*, 180(6), 1771–1776. <https://doi.org/10.1086/315093>
213. Kuodi P., Patterson J., Silal S., Hussey G.D., Kagina B.M. Characterisation of the environmental presence of hepatitis A virus in low-income and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2020;10:e036407. doi: 10.1136/bmjopen-2019-036407.
214. Kutz, S. M., & Gerba, C. P. (1988). Comparison of virus survival in freshwater sources. *Water Science and Technology*, 20(11–12), 467–471
215. La Rosa, G., Pourshaban, M., Iaconelli, M., Muscillo, M., 2010. Quantitative real-timePCR of enteric viruses in influent and effluent samples from wastewater treatment plants in Italy. *Ann. Ist. Super Sanita* 46, 266e273.
- Landry, E.F., Vaughn, J.M., Vicale, T.J., Mann, R., 1983.

- Accumulation of sediment-associated viruses in shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 238e247. Lebarbenchon, C., Yang, M., Keeler, S.P.,
216. Landrigan PJ, Fuller R, Fisher S, Suk WA, Sly P, Chiles TC, Bose-O'Reilly S. Pollution and children's health. *Science of the Total Environment.* 2019;650:2389-2394. Available: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.375>
 217. Landrigan, P. J., Fuller, R., Fisher, S., Suk, W. A., Sly, P., Chiles, T. C., et al. (2018). Pollution and Children's Health. *Sci. Total Environ.* 650 (Pt 2), 2389–2394. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.09.375
 218. Lee, J. E.; Lee, H.; Cho, Y. H.; Hur, H. G. and Ko, G. (2011). F+ RNA coliphage-based microbial source tracking in water resources of South Korea. *Sci. Total Environ.*, 412, 127–131.
 219. Lee, S.; Ihara, M.; Yamashita, N.; Tanaka, H. Improvement of virus removal by pilot-scale coagulation-ultrafiltration process for wastewater reclamation: Effect of optimization of pH in secondary effluent. *Water Res.* 2017, 114, 23–30.
 220. Lemuth, K.; Rupp, S. Microarrays as Research Tools and Diagnostic Devices. In *RNA and DNA Diagnostics*; Erdmann, V.A., Jurga, S., Barciszewski, J., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2015; pp. 259–280.
 221. Lenaerts, L.; De Clercq, E. and Naesens, L. (2008). Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Rev. Med. Virol.*, 18(6): 357–374.
 222. Lesimple, A.; Jasim, S.Y.; Johnson, D.J.; Hilal, N. The role of wastewater treatment plants as tools for SARS-CoV-2 early detection and removal. *J. Water Process Eng.* 2020, 38, 101544.
 223. Levican, J., Levican, A., Ampuero, M., Gaggero, A., 2019. JC polyomavirus circulation in one-year surveillance in wastewater in Santiago, Chile. *Infect. Genet. Evol.* 71, 151e158. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.03.017>.
 224. Lhomme S, Abravanel F, Cintas P, Izopet J. Hepatitis E virus infection: Neurological manifestations and pathophysiology. *Pathogens.* 2021;10(12):1582. doi: 10.3390/pathogens10121582.
 225. Li P, Liu J, Li Y, Su J, Ma Z, Bramer WM, Cao W, de Man RA, Peppelenbosch MP, Pan Q. The global epidemiology of hepatitis E virus infection: A systematic review and meta-analysis. *Liver International.* 2020;40:1516–1528. doi: 10.1111/liv.14468.
 226. Liang, L., Goh, S.G., Gin, K.Y.H., 2017. Decay kinetics of microbial source tracking (MST) markers and human adenovirus under the effects of

- sunlight and salinity. *Sci. Total Environ.* 574, 165e175. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.031>
227. Liew, M. N., & Gerba, C. P. (1980). Protective effect of clay on virus inactivation by ribonuclease. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(3), 552–554. <https://doi.org/10.1128/AEM.40.3.552-554.1980>
 228. Liste, M. B.; Natera, I.; Suarez, J. A.; Pujol, F. H.; Liprandi, F. and Ludert, J. E. (2000). Enteric virus infections and diarrhea in healthy and human immunodeficiency virus-infected children. *J. Clin. Microbiol.*, 38(8): 2873–2877.
 229. Little V L (2002) Graywater Guidelines, The water conservation alliance of southern Arizona, Tucson, Arizona, USA 2002.
 230. 233. Love, D. C.; Vinje, J.; Khalil, S. M.; Murphy, J.; Lovelace, G. L. and Sobsey, M. D. (2008). Evaluation of RT-PCR and reverse line blot hybridization for detection and genotyping F+ RNA coliphages from estuarine waters and molluscan shellfish. *J. Appl. Microbiol.*, 104(4): 1203–1212.
 231. Lucena F, Schwartzbrod L, Bosch A. The effect of a mass poliomyelitis vaccination program on the occurrence of enterovirus in sea water. *Zentralblatt Für Bakteriologie Mikrobiologie Und Hygiene Serie B Umwelthygiene Krankenhaushygiene Arbeitshygiene Präventive Medizin.* 1986;183:67–69.
 232. Lumaque, J. M., Santos, J. A. P., Juanico, E., Abello, J. J., Bondoc, J. L., & Rivera, W. L. (2015). Detection of human adenoviruses in environmental waters of the Philippines. *Journal of Virological Methods*, 330, 115041. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2024.115041>
 233. Luukkonen, T.; Heyninck, T.; Ramo, J.; Lassi, U. Comparison of organic peracids in wastewater treatment: Disinfection, oxidation and corrosion. *Water Res.* 2015, 85, 275–285.
 234. Kitajima M., Iker B.C., Pepper I.L., Gerba C.P. Relative abundance and treatment reduction of viruses during wastewater treatment processes—identification of potential viral indicators *Sci. Total Environ.*, 488 (2014)
 235. Magana-Arachchi D., Wanigatunge R. (2020). “Ubiquitous waterborne pathogens” in *Waterborne Pathogens*. eds. Prasad M. N., Grobelak A. (United Kingdom: Elsevier;), 15–42.
 236. Majumdar, M. , Klapsa D., Wilton T., et al. 2021. “High Diversity of Human Non-Polio Enterovirus Serotypes Identified in Contaminated Water in Nigeria.” *Viruses* 13: 249.

237. Marino, D. D. (2007). Water and Food Safety in the Developing World: Global Implications for Health and Nutrition of Infants and Young Children. *J. Am. Dietetic Assoc.* 107 (11), 1930–1934. doi:10.1016/j.jada.2007.08.013
238. Masclaux, F.G.; Hotz, P.; Friedli, D.; Savova-Bianchi, D.; Oppliger, A. High occurrence of hepatitis E virus in samples from wastewater treatment plants in Switzerland and comparison with other enteric viruses. *Water Res.* 2013, 47, 5101–5109.
239. Mathew, JT; Inobeme, A; Musah, M.; Azeh, Y.; Abdullahi, A.; Shaba EY; Salihu, AM; Muhammad, EB; Josiah, JG; Jibrin, NA; Ismail, H; Muhammad, AI; Maurice, J; Mamman, A; Ndamitso, MM. (2024)a. A Critical Review of Green Approach on Wastewater Treatment Strategies. *J. Appl. Sci. Environ. Manag.*; 28(2): 363-391. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/jasem.v28i2.9>
240. 243. Mathijs E, Stals A, Baert L, Botteldoorn N, Denayer S, Mauroy A, Scipioni A, Daube G, Dierick K, Herman L, Van Coillie E, Uyttendaele M, Thiry E. A review of known and hypothetical transmission routes for noroviruses. *Food and Environmental Virology*. 2012;4(4):131–152. doi: 10.1007/s12560-012-9091-z.
241. Maunula L., Miettinen I.T., von Bonsdorff C.H. (2005). Norovirus Outbreaks from Drinking Water. *Emerging Infectious Diseases*, 11(11): 1716–1721.
242. Melnick JL, Modlin JF, Feinstone SM. Hepatitis A. In: *Virology: Molecular Biology and Pathogenesis*. New York: Raven Press; 1992. p. 711–733.
243. Melnick, J. L. 1947. “Poliomyelitis Virus in Urban Sewage in Epidemic and in Nonepidemic Times.” *American Journal of Hygiene* 45: 240–253.
244. Melnick, J.L., & Gerba, C.P. (1980). Antiviral activity of photosensitizers in aquatic environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(6), 1193–1200.
245. Melnick, J.L., 1984. Etiologic agents and their potential for causing waterborne virus diseases. In: Melnick, J.L. (Ed.), *Enteric Viruses in Water*. Kragel, Basel, Switzerland, pp. 1e16.
246. Mena, K. D., & Gerba, C. P. (2008). Waterborne adenovirus. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 198, 133–167. https://doi.org/10.1007/978-0-387-09647-6_3

247. Meqdam, M. M., & Thwiny, I. R. (2007). Prevalence of enteric adenovirus serotypes 40 and 41 in Jordanian children with gastroenteritis. *Journal of Medical Virology*, 79(5), 626–629. <https://doi.org/10.1002/jmv.20846>
248. Messner, M. J.; Berger, P. and Javier, J. (2017). Total coliform and *E. coli* in public water systems using undisinfected ground water in the United States. *Folia Int. J. Hyg. Environ. Health.*,220(4): 736–743
249. Metcalf, T.G. Use of membrane filters to facilitate the recovery of virus from aqueous suspensions. *Appl. Microbiol.* 1961, 9, 376–379.
250. Miura, T.; Schaeffer, J.; Le Saux, J.C.; Le Mehaute, P.; Le Guyader, F.S. Virus Type-Specific Removal in a Full-Scale Membrane Bioreactor Treatment Process. *Food Environ. Virol.* 2018, 10, 176–186.
251. Modiyinji AF, Bigna JJ, Kenmoe S, Simo FBN, Amougou MA, Ndangang MS, Nola M, Njouom R. Epidemiology of hepatitis E virus infection in animals in Africa: A systematic review and meta-analysis. *BMC Veterinary Research*. 2021;17:50. doi: 10.1186/s12917-021-02749-5.
252. Mohamed, S. Biological and Chemical Wastewater Treatment Processes. In *Wastewater Treatment Engineering*; Mohamed, S., Ed.; IntechOpen: Rijeka, Croatia, 2015; p. Ch. 1.
253. Mohan, S.V.; Hemalatha, M.; Kopperi, H.; Ranjith, I.; Kumar, A.K. SARS-CoV-2 in environmental perspective: Occurrence, persistence, surveillance, inactivation and challenges. *Chem. Eng. J.* 2021, 405, 126893
254. Mohan, S.V.; Hemalatha, M.; Kopperi, H.; Ranjith, I.; Kumar, A.K. SARS-CoV-2 in environmental perspective: Occurrence, persistence, surveillance, inactivation and challenges. *Chem. Eng. J.* 2021, 405, 126893.
255. Moraes DFSD, Mesquita JR, Dutra V, Nascimento MSJ. Systematic review of hepatitis E virus in Brazil: A one-health approach of the human-animal-environment triad. *Animals*. 2021;11(8):2290. doi: 10.3390/ani11082290.
256. Mousazadeh, M.; Kabdasli, I.; Khademi, S.; Sandoval, M.A.; Moussavi, S.P.; Malekdar, F.; Gilhotra, V.; Hashemi, M.; Dehghani, M.H. A critical review on the existing wastewater treatment methods in the COVID-19 era: What is the potential of advanced oxidation processes in combatting viral especially SARS-CoV-2? *J. Water Process Eng.* 2022, 49, 103077.
257. Murray, A. E., & Laband, M. (1979). Virus adsorption to sediments: Effects on survival and transport. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(5), 1010–1015. <https://doi.org/10.1128/AEM.37.5.1010-1015.1979>

258. Muscillo, M., Pourshaban, M., Iaconelli, M., Fontana, S., Di Grazia, A., Manzara, S., Fadda, G., Santangelo, R., La Rosa, G., 2008. Detection and quantification of human adenoviruses in surface waters by nested PCR, TaqMan real-time PCR and cell culture assays. *Water Air Soil Pollut.* 191, 83e93. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9608-5>.
259. Muttil, N; Nasrin, T; Sharma, AK. (2023). Impacts of Extreme Rainfalls on Sewer Overflows and WSUD-Based Mitigation Strategies: A Review. *Water*, 15: 429. <https://doi.org/10.3390/w15030429>
260. Myrmel, M., Lange, H., Rimstad, E., 2015. A 1-Year quantitative survey of Noro-, Adeno-, human Bocavirus, and Hepatitis E Viruses in raw and secondarily treated sewage from two plants in Norway. *Food Environ. Virol.* 7, 213e223. <https://doi.org/10.1007/s12560-015-9200-x>.
261. Nemeth, Z.; Szekeres, G.P.; Schabikowski, M.; Schrantz, K.; Traber, J.; Pronk, W.; Hernadi, K.; Graule, T. Enhanced virus filtration in hybrid membranes with MWCNT nanocomposite. *R. Soc. Open Sci.* 2019, 6, 181294.
262. Noble RT, Fuhrman JA, Porter JW. Enteroviruses detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction from the coastal waters of Santa Monica Bay, California: low correlation to bacterial indicator levels. *Hydrobiologia.* 2001;460:175–184. doi: 10.1023/A:1013121416891.
263. O’Kennedy, R.; Fitzgerald, S.; Murphy, C. Don’t blame it all on antibodies—The need for exhaustive characterisation, appropriate handling, and addressing the issues that affect specificity. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2017, 89, 53–59.
264. Ogorzaly, L., Bertrand, I., Paris, M., Maul, A., Gantzer, C., 2010. Occurrence, survival, and persistence of human adenoviruses and F-specific RNA phages in raw groundwater. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 8019e8025. <https://doi.org/10.1128/AEM.00917-10>
265. Ogorzaly, L., Tissier, A., Bertrand, I., Maul, A., Gantzer, C., 2009. Relationship between F-specific RNA phage genogroups, faecal pollution indicators and human adenoviruses in river water. *Water Res.* 43, 1257e1264.
266. Ojha, A. Chapter 19—Nanomaterials for removal of waterborne pathogens: Opportunities and challenges. In *Waterborne Pathogens*; Vara Prasad, M.N., Grobelak, A., Eds.; Butterworth-Heinemann: Oxford, UK, 2020; pp. 385–432.
267. Okeke, C.O. and Igboanua, A.H. (2003). Characteristics and quality assessment of surface water and groundwater resources of Akwa Town, Southeast, Nigeria. *J. Niger. Assoc. Hydrol. Geol.* 14: 71-77.

268. Okoh AI, Igbinosa EO. Antibiotic susceptibility profiles of some vibrio, strains isolated from wastewater final effluents in a rural community of the eastern cape province of south africa. *BMC Microbiol.* 2010;10(1):143–148. doi: 10.1186/1471-2180-10-143.
269. Olortegui MP, Cleary TG, Salazar-Lindo E, et al. Astrovirus infection and diarrhoea in 8 countries. *Pediatrics.* 2018;141(1):e20171326. doi:10.1542/peds.2017-1326
270. Omatola, C. A., & Olaniran, A. O. (2022). Rotavirus in developing countries: Molecular diversity, epidemiological insights, and strategies for effective vaccination. *Pathogens*, 11(8), 888. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080888>
271. Opere W. M. (2019). Detection of Pathogenic Human Adenoviruses in water Samples Collected from Lake Victoria along Homa Bay Town, Homa Bay Country: Kenya Kenyatta University;
272. Oppong, T. B., Yang, H., Amponsem-Boateng, C., Kyere, E. K. D., Abdulai, T., Duan, G., & Opolot, G. (2020). Enteric pathogens associated with gastroenteritis among children under 5 years in sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiology and Infection*, 148, e64. <https://doi.org/10.1017/S0950268820000618ig>
273. Ortmann, A.C.; Suttle, C.A. Determination of virus abundance by epifluorescence microscopy. *Methods Mol. Biol.* 2009, 501, 87–95.
274. Otawa, K.; Lee, S.H.; Yamazoe, A.; Onuki, M.; Satoh, H.; Mino, T. Abundance, diversity, and dynamics of viruses on microorganisms in activated sludge processes. *Microb. Ecol.* 2007, 53, 143–152.
275. Otoo, J.A.; Schlappi, T.S. REASSURED Multiplex Diagnostics: A Critical Review and Forecast. *Biosensors* 2022, 12, 124.
276. Ottoson, J.; Hansen, A.; Björlenius, B.; Norder, H. and Stenström, T. A. (2006). Removal of viruses, parasitic protozoa and microbial indicators in conventional and membrane processes in a wastewater pilot plant. *Water Res.*, 40(7): 1449–1457.
277. Pancorbo, O. C.; Evanshen, B. G.; Campbell, W. F.; Lambert, S.; Curtis, S. K. and Woolley, T. W. (1987). Infectivity and antigenicity reduction rates of human rotavirus strain Wa in fresh waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(8): 1803–1811.
278. Paruch, L. Molecular Diagnostic Tools Applied for Assessing Microbial Water Quality. *Int. J. Env. Res. Public Health* 2022, 19, 5128.

279. Payment, P.; Waite, M. and Dufour, A. (2003). Introducing parameters for the assessment of drinking water quality. *Assess. Microb. Saf. Drink. water.*,4, 47–77.
280. Pina, S.; Puig, M.; Lucena, F.; Jofre, J. and Girones, R. (1998). Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(9): 3376–3382.
281. Pinon, A. and Vialette, M. (2018). Survival of viruses in water. *Intervirology*, 61(5): 214–222.
282. Pischke S, Hartl J, Pas SD, Lohse AW, Jacobs BC, Van der Eijk AA. Hepatitis E virus: Infection beyond the liver? *Journal of Hepatology*. 2017;66:1082–1095. doi: 10.1016/j.jhep.2016.11.016.
283. Pohjanpelto, P., et al. (1961). Response of enteroviruses to cystine. *Journal of Bacteriology*, 86(3), 499–504. <https://doi.org/10.1128/jb.86.3.499-504.1963>
284. Prado, T., Bruni, A. de C., Barbosa, M.R.F., Bonanno, V.M.S., Garcia, S.C., Sato, M.I.Z., 2018. Distribution of human fecal marker GB-124 bacteriophages in urban sewage and reclaimed water of São Paulo city, Brazil. *J. Water Health* 16, 289–299. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.011>
285. Prado, T., de Castro Bruni, A., Barbosa, M.R.F., Garcia, S.C., de Jesus Melo, A.M., Sato, M.I.Z., 2019. Performance of wastewater reclamation systems in enteric virus removal. *Sci. Total Environ.* 678, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.435>
286. Prado, T.; de Castro Bruni, A.; Barbosa, M.R.F.; Garcia, S.C.; de Jesus Melo, A.M.; Sato, M.I.Z. Performance of wastewater reclamation systems in enteric virus removal. *Sci. Total Environ.* 2019, 678, 33–42. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
287. Prado, T.; Silva, D.M.; Guilayn, W.C.; Rose, T.L.; Gaspar, A.M.; Miagostovich, M.P. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. *Water Res.* 2011, 45, 1287–1297.
288. Pradon B.R, Ashbolt N.R, Korajkic A. Bacteriophages as indicators of faecal pollution and enteric virus removal *Lett. Appl. Microbiol.*, 65 (1) (2017)
- 289.
290. Prata, C.; Ribeiro, A.; Cunha, A.; Gomes, N.C.; Almeida, A. Ultracentrifugation as a direct method to concentrate viruses in environmental waters: Virus-like particle enumeration as a new approach

- to determine the efficiency of recovery. *J. Environ. Monit.* 2012, 14, 64–70.
291. Prevost, B., Goulet, M., Lucas, F.S., Joyeux, M., Moulin, L., Wurtzer, S., 2016. Viral persistence in surface and drinking water: suitability of PCR pre-treatment with intercalating dyes. *Water Res.* 91 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.12.049>.
 292. Prez, V. E. , Martínez L. C., Victoria M., et al. 2018. “Tracking Enteric Viruses in Green Vegetables From Central Argentina: Potential Association With Viral Contamination of Irrigation Waters.” *Science of the Total Environment* 637–638: 665–671. [10.1016/j.scitotenv.2018.05.044](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.044).
 293. Puig M, Jofre J, Lucena F, Allard A, Wadell G, Girones R. Detection of adenoviruses and enteroviruses in polluted waters by nested PCR amplification. *Appl Environ Microbiol.* 1994;60(8):2963–70
 294. Puig, M., Jofre, J., Lucena, F., Allard, A., Wadell, G., & Girones, R. (1994). Detection of adenoviruses and enteroviruses in polluted waters by nested PCR amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(8), 2963–2970. <https://doi.org/10.1128/aem.60.8.2963-2970.1994>
 295. Qiu, Y.; Lee, B.E.; Ruecker, N.J.; Neumann, N.; Ashbolt, N.; Pang, X. A one-step centrifugal ultrafiltration method to concentrate enteric viruses from wastewater. *J. Virol. Methods* 2016, 237, 150–153.
 296. Qiu, Y.; Li, Q.; Lee, B.E.; Ruecker, N.J.; Neumann, N.F.; Ashbolt, N.J.; Pang, X. UV inactivation of human infectious viruses at two full-scale wastewater treatment plants in Canada. *Water Res.* 2018, 147, 73–81.
 297. Quiroz-Santiago, C., Ortega-Barría, E., Loera-Muro, A., & Morales-Romero, J. (2014). Rotavirus G2P[4] detection in fresh vegetables and oysters in Mexico City. *Journal of Food Protection*, 77(11), 1953–1959. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-426>
 298. Radin D. (2014). New trends in food-and waterborne viral outbreaks. *Arch. Biol. Sci.* 66, 1–9. doi: 10.2298/ABS1401001R
 299. Rajal, V.B., McSwain, B.S., Thompson, D.E., Leutenegger, C.M., and Wuertz, S., 2007, Molecular quantitative analysis of human viruses in California stormwater: *Water Research*, v. 41, p. 4287–4298.
 300. Rajtar, B. , Majek M., Polański Ł., and Polz-Dacewicz M.. 2008. “Enteroviruses in Water Environment – A Potential Threat to Public Health.” *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 15: 199–203.
 301. Ramakrishnaiah, C.R., Sadashivalah, C and Ranganna, G. (2009). Assessment of water quality index for groundwater in Tumkur Taluk, Karnataka State. *Indian J. Chem.* 6: 523-530.

302. Rashed, M. K.; El-Senousy, W. M.; Sayed, E. T. A. E. and AlKhazindar, M. (2022). Infectious Pepper Mild Mottle Virus and Human Adenoviruses as Viral Indices in Sewage and Water Samples. *Food Environ. Virol.*, 0123456789.
303. Rashid, M. , Khan M. N., and Jalbani N.. 2021. “Detection of Human Adenovirus, Rotavirus, and Enterovirus in Tap Water and Their Association With the Overall Quality of Water in Karachi, Pakistan.” *Food and Environmental Virology* 13: 44–52.
304. Reuter, G., Boros, □A., Pankovics, P., 2011. Kobuviruses ea comprehensive review.Rev. Med. Virol. 21, 32e41. <https://doi.org/10.1002/rmv.677>
305. Revilla Pacheco, C.; Teran Hilares, R.; Colina Andrade, G.; Mogrovejo-Valdivia, A.; Pacheco Tanaka, D.A. Emerging contaminants, SARS-COV-2 and wastewater treatment plants, new challenges to confront: A short review. *Bioresour. Technol. Rep.* 2021, 15, 100731.
306. Reynolds, K.A. Integrated cell culture/PCR for detection of enteric viruses in environmental samples. *Methods Mol. Biol.* 2004, 268, 69–78.
307. Rigotto, C., Hanley, K., Rochelle, P.A., De Leon, R., Barardi, C.R.M., Yates, M.V., 2011.Survival of adenovirus types 2 and 41 in surface and ground waters measuredby a plaque assay. *Environ. Sci. Technol.* 45, 4145e4150. <https://doi.org/10.1021/es103922r>.
308. Rock, C.; Alum, A.; Abbaszadegan, M. PCR inhibitor levels in concentrates of biosolid samples predicted by a new method based on excitation-emission matrix spectroscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 76, 8102–8109.
309. Rodriguez, R.A.; Pepper, I.L.; Gerba, C.P. Application of PCR-based methods to assess the infectivity of enteric viruses in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009, 75, 297–307.
310. Rosario, K., Symonds, E.M., Sinigalliano, C., Stewart, J., Breitbart, M., 2009. Peppermild mottle virus as an indicator of fecal pollution. *Appl. Environ. Microbiol.* 75,7261e7267. <https://doi.org/10.1128/AEM.00410-09>
311. Rusi~nol, M., Fernandez-Cassi, X., Timoneda, N., Carratal□a, A., Abril, J.F., Silvera, C.,Figueras, M.J., Gelati, E., Rod□o, X., Kay, D., Wyn-Jones, P., Bofill-Mas, S.,Girones, R., 2015. Evidence of viral dissemination and seasonality in a Medi-terranean river catchment: implications for water pollution management.J. Environ. Manag. 159, 58e67. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.05.019>

312. Said B, et al. Outbreaks of infectious disease associated with private drinking water supplies in England and Wales 1970–2000. *Epidemiology and Infection* 2003 ;130: 469–479
313. Samineni, L.; Xiong, B.; Chowdhury, R.; Pei, A.; Kuehster, L.; Wang, H.; Dickey, R.; Soto, P.E.; Massenburg, L.; Nguyen, T.H.; et al. 7 Log Virus Removal in a Simple Functionalized Sand Filter. *Environ. Sci. Technol.* 2019, 53, 12706–12714.
314. Sano, D., Amarasiri, M., Hata, A., Watanabe, T., Katayama, H., Amarasiri, M., Hata, A., Watanabe, T., Katayama, H., 2016. Risk Management of Viral Infectious Diseases in Wastewater Reclamation and Reuse: Review. *Environment International*. Pergamon. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.03.001>
315. Sassi, H.P., Tuttle, K.D., Betancourt, W.Q., Kitajima, M., Gerba, C.P., 2018. Persistence of viruses by qPCR downstream of three effluent-dominated rivers in the western United States. *Food Environ. Virol.* 10, 297e304. <https://doi.org/10.1007/s12560-018-9343-7>
316. Schmitz, B.W., Kitajima, M., Campillo, M.E., Gerba, C.P., Pepper, I.L., 2016. Virus reduction during advanced barndropho and conventional wastewater treatment processes. *Environ. Sci. Technol.* 50, 9524e9532. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01384>
317. Scott, T. M.; Jenkins, T. M.; Lukasik, J. and Rose, J. B. (2005). Potential use of a host associated molecular marker in *Enterococcus faecium* as an index of human fecal pollution. *Environ. Sci. Technol.*, 39(1): 283–287.

Sedji, M.I., Varbanov, M., Meo, M., Colin, M., Mathieu, L., Bertrand, I., 2018. Quantification of human adenovirus and norovirus in river water in the north-east of France. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 30497e30507. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3045-4>.
318. Sedji, M.I., Varbanov, M., Meo, M., Colin, M., Mathieu, L., Bertrand, I., 2018. Quantification of human adenovirus and norovirus in river water in the north-east of France. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 30497e30507. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3045-4>.
319. Seehafer, J.P., Carpenter, P., Downer, D.N., Colter, J.S., 1978. Observations on the growth and plaque assay of BK virus in cultured human and monkey cells. *J. Gen. Virol.* 38, 383e387.
320. Setiyawan, A.S., Yamada, T., Fajri, J.A., Li, F., Helard, D., Horio, A., Huang, M., Kawaguchi, T., 2013. Spatial and temporal variation in concentration of F-specific RNA bacteriophages in an open channel

- receiving Johkasou effluents. 土木学会論文集G 69, 667e678.
https://doi.org/10.2208/jscejer.69.III_667.
321. Sidhu, J. P. S.; and Toze, S. G. (2009). Human pathogens and their indicators in biosolids: a literature review. *Environ. Int.*, 35(1): 187–201.
 322. Sidhu, J.P.; Ahmed, W.; Toze, S. Sensitive detection of human adenovirus from small volume of primary wastewater samples by quantitative PCR. *J. Virol. Methods* 2013, 187, 395–400.
 323. Sidhu, J.P.S., Sena, K., Hodggers, L., Palmer, A., Toze, S., 2017b. Comparative entericviruses and coliphage removal during wastewater treatment processes in a sub-tropical environment. *Sci. Total Environ.* 616, 669e677. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.265>
 324. Sidhu, J.P.S., Sena, K., Hodggers, L., Palmer, A., Toze, S., 2017b. Comparative entericviruses and coliphage removal during wastewater treatment processes in a sub-tropical environment. *Sci. Total Environ.* 616, 669e677. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.265>
 325. Sigmon, C.; Shin, G.-A.; Mieog, J.; Linden, K.G. Establishing Surrogate–Virus Relationships for Ozone Disinfection of Wastewater. *Environ. Eng. Sci.* 2015, 32, 451–460.
 326. Simmons, F.J.,V, D.H.W., Xagorarakis, I., 2011. Removal of human enteric viruses by a full-scale membrane bioreactor during municipal wastewater processing. *Water Res.* 45, 2739e2750. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.02.001>
 327. Singer, M. J., & Fraenkel-Conrat, H. (1961). Protective effect of clay on virus inactivation by ribonuclease. *Science*, 133(3456), 1494–1495. <https://doi.org/10.1126/science.133.3456.1494ew>
 328. Siqueira JD, Souza MR, Oliveira D, et al. Astrovirus infection in hospitalized children: molecular, clinical and epidemiological features. *J Clin Virol.* 2017;92:31–36. doi:10.1016/j.jcv.2017.05.009
 329. Smith, H. V., & Hurst, C. J. (1978). Survival of enteric viruses in sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 36(2), 314–318. <https://doi.org/10.1128/AEM.36.2.314-318.1978>
 330. Staggemeier, R., Heck, T.M.S., Demoliner, M., Ritzel, R.G.F., Röhnelt, N.M.S., Girardi, V., Venker, C.A.C., Spilki, F.R., 2017. Enteric viruses and adenovirus diversity in waters from 2016 Olympic venues. *Sci. Total Environ.* 586, 304e312. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.223>
 331. Steyer A, Gutiérrez-Aguirre I, Rački N, Beigot Glaser S, Brajer Humar B, Stražar M, Škrjanc I, Poljšak-Prijatelj M, Ravnikar M, Rupnik M. The detection rate of enteric viruses and *Clostridium difficile* in a waste water

- treatment plant effluent. *Food and Environmental Virology*. 2015 doi: 10.1007/s12560-015-9183-7.
332. Strubbia, S.; Schaeffer, J.; Oude Munnink, B.B.; Besnard, A.; Phan, M.V.T.; Nieuwenhuijse, D.F.; de Graaf, M.; Schapendonk, C.M.E.; Wacrenier, C.; Cotten, M.; et al. Metavirome Sequencing to Evaluate Norovirus Diversity in Sewage and Related Bioaccumulated Oysters. *Front. Microbiol.* 2019, 10, 2394.
 333. Symonds, E.M., Nguyen, K.H., Harwood, V.J., Breitbart, M., 2018. Pepper mild mottle virus: a plant pathogen with a greater purpose in (waste)water treatment development and public health management. *Water Res.* 144, 1e12. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.06.066>.
 334. Symonds, E.M., Nguyen, K.H., Harwood, V.J., Breitbart, M., 2018. Pepper mild mottle virus: a plant pathogen with a greater purpose in (waste)water treatment development and public health management. *Water Res.* 144, 1e12. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.06.066>
 335. Symonds, E.M., Sinigalliano, C., Gidley, M., Ahmed, W., McQuaig-Ulrich, S.M., Breitbart, M., 2016. Faecal pollution along the southeastern coast of Florida and insight into the use of pepper mild mottle virus as an indicator. *J. Appl. Microbiol.* 121, 1469e1481. <https://doi.org/10.1111/jam.13252>.
 336. Team, S. H. (2004). *Water, Sanitation and Hygiene Links to Health: Facts and Figures*. World Health Organization
 337. Teunis P.F.M., Moe C.L., Liu P., Miller S.E., Lindesmith L., Baric R.S., Le Pendu J., Calderon R.L. (2008). Norwalk virus: how infectious is it? *Journal of Medical Virology*, 80(8): 1468–1476.
 338. Teymoorian, T.; Teymourian, T.; Kowsari, E.; Ramakrishna, S. Direct and indirect effects of SARS-CoV-2 on wastewater treatment. *J. Water Process Eng.* 2021, 42, 102193.
 339. Thébault A., Roque-Afonso A.-M., Kooh P., Cadavez V., Gonzales-Barron U., Pavió N. Risk factors for sporadic hepatitis A infection: A systematic review and meta-analysis. *Microb. Risk Anal.* 2021;17:100155. doi: 10.1016/j.mran.2020.100155.
 340. Thompson, S. S., & Yates, M. V. (1999). Bacteriophage inactivation at the air-water-solid interface in dynamic batch systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 1186–1190. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.3.1186-1190.1999>

341. Thurman, R.B., & Gerba, C.P. (1988). The effect of metals on enteric viruses in water. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(12), 2865–2870.
342. Tiwari, A.; Ahmed, W.; Oikarinen, S.; Sherchan, S.P.; Heikinheimo, A.; Jiang, G.; Simpson, S.L.; Greaves, J.; Bivins, A. Application of digital PCR for public health-related water quality monitoring. *Sci. Total Environ.* 2022, 837, 155663.
343. Tong HI, Connell C, Boehm AB, Effective LY. Detection of human noroviruses in hawaiian waters using enhanced rt-pcr methods. *Water Res.* 2011;45:5837–5848. doi: 10.1016/j.watres.2011.08.030.
344. Toribio-Avedillo, D.; Blanch, A. R.; Muniesa, M. and Rodríguez-Rubio, L. (2021). Bacteriophages as fecal pollution indicators. *Viruses*, 13(6): 1089.
345. Tornevi, A. , Axelsson G., and Forsberg B.. 2013. “Association Between Precipitation Upstream of a Drinking Water Utility and Nurse Advice Calls Relating to Acute Gastrointestinal Illnesses.” *PLoS One* 8: e69918.
346. Tran, N. H.; Gin, K. Y. H. and Ngo, H. H. (2015). Fecal pollution source tracking toolbox for identification, evaluation and characterization of fecal contamination in receiving urban surface waters and groundwater. *Sci. Total Environ.*, 538, 38–57
347. Treagus S, Wright C, Baker-Austin C, Longdon B, Lowther J. The foodborne transmission of hepatitis E virus to humans. *Food and Environmental Virology*. 2021;13:127–145. doi: 10.1007/s12560-021-09461-5.
348. Ullah S, Javed MW, Shafique M, Khan SF. An integrated approach for quality assessment of drinking water using GIS: A case study of Lower Dir. *Journal of Himalayan Earth Science*. 2014;47(2).
349. Upfold, N. S. , Luke G. A., and Knox C.. 2021. “Occurrence of Human Enteric Viruses in Water Sources and Shellfish: A Focus on Africa.” *Food and Environmental Virology* 13: 1–31.
350. Van der Poel WHM, Rzezutka A, Sano D, Duizer E. Hepatitis A virus in water: what do we know? *Environ Int.* 2022;158:106911.
351. van Heerden, J., Ehlers, M. M., van Zyl, W. B., & Grabow, W. O. K. (2004). Prevalence of human adenoviruses in raw and treated water. *Water Science and Technology*, 50(1), 39–43.
352. van Zyl, W. B., Steele, A. D., & Grabow, W. O. K. (2006). Molecular epidemiology of group A rotaviruses in water sources and selected raw

- vegetables in southern Africa. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 4554–4560. <https://doi.org/10.1128/AEM.02119-05>
353. Vecchia, A. D., Fleck, J. D., Comerlato, J., Kluge, M., Bergamaschi, B., & da Silva, J. V. S. (2012). First description of Adenovirus, Enterovirus, Rotavirus and Torque teno virus in water samples collected from the Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 72(2), 323–329. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842012000200013>
 354. Verani, M. , Pagani A., Federigi I., et al. 2024. “Wastewater-Based Epidemiology for Viral Surveillance From an Endemic Perspective: Evidence and Challenges.” *Viruses* 16: 482.
 355. Vergara, G., Goh, S.G., Rezaeinejad, S., Chang, S.Y., Sobsey, M.D., Gin, K.Y.H., 2015.Evaluation of FRNA coliphages as indicators of human enteric viruses in atropical urban freshwater catchment. *Water Res.* 79, 39e47.
 356. Viray, M. (1991). Shellfish-associated hepatitis A outbreaks: a review. *American Journal of Epidemiology*, 134(2), 188–192. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116065>
 357. Viray, M., Hofmeister, M. G., Johnston, D. I., Krishnasamy, V. P., Nichols, C., Foster, M. A., ... & Kamili, S. (2016). Hepatitis A outbreak associated with raw scallops imported from the Philippines — Hawaii, 2016. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 65(33), 892–897. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6533a2>
 358. Vogel, J. R.; Stoeckel, D. M.; Lamendella, R.; Zelt, R. B.; Santo Domingo, J. W.; Walker, S. R. and Oerther, D. B. (2007). Identifying fecal sources in a selected catchment reach using multiple source-tracking tools. *J. Environ. Qual.* 36, 718–729.
 359. Vu, D.-L., Bosch, A., Pintó, R. M., & Guix, S. (2017). Epidemiology of Classic and Novel Human Astrovirus: Gastroenteritis and Beyond. *Viruses*, 9(2), 33. <https://doi.org/10.3390/v9020033>
 360. W. Ahmed, A. Bivins, P.M. Bertsch, K. Bibby, P. Gyawali, S.P. Sherchan, S.L. Simpson, K.V. Thomas, R. Verhagen, M. Kitajima Intraday variability of indicator and pathogenic viruses in 1-h and 24-h composite wastewater samples: Implications for wastewater-based epidemiology *Environ. Res.*, 193 (2021)
 361. Walker, D. I.; Adriaenssens, E. M.; McDonald, J. E.; Hillary, L. S.; Malham, S. K. and Jones, D. L. (2020). Viral indicators for tracking domestic wastewater contamination in the aquatic environment. *Water Res.*, 181, 115926.

362. Walker, D.I., Cross, L.J., Stapleton, T.A., Jenkins, C.L., Lees, D.N., Lowther, J.A., 2019. Assessment of the applicability of capsid - integrity assays for detecting infectious norovirus inactivated by heat or UV irradiation. *Food Environ. Virol.* 11 (3), 229e237. <https://doi.org/10.1007/s12560-019-09390-4>
363. Wallis, C., & Melnick, J. L. (1965). Photodynamic inactivation of enteroviruses. *Journal of Bacteriology*, 89(1), 41–46.
364. Wallis, C.; Melnick, J.L. Concentration of enteroviruses on membrane filters. *J. Virol.* 1967, 1, 472–477
365. Wang, H., Naghavi, M., Allen, C., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Carter, A., ... & Murray, C. J. L. (2016). Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053), 1459–1544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31012-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31012-1)
366. Wasley A, Grytdal S, Gallagher K. Surveillance for acute viral hepatitis — United States, 2016–2018. *MMWR Surveill Summ.* 2018;67(2):1–14. doi:10.15585/mmwr.ss6702a1
367. Wen, X., Chen, F., Lin, Y., Zhu, H., Yuan, F., Kuang, D., Jia, Z., & Yuan, Z. (2020). Microbial indicators and their use for monitoring drinking water quality—A review. *Sustainability*, 12(6), 2249.
368. Wetz, J. J.; Lipp, E. K.; Griffin, D. W.; Lukasik, J.; Wait, D.; Sobsey, M. D.; Scott, T. M. and Rose, J. B. (2004). Presence, infectivity, and stability of enteric viruses in seawater: relationship to marine water quality in the Florida Keys. *Mar. Pollut. Bull.*, 48(7–8): 698–704.
369. WHO (2011) Guidelines for drinking-water quality, 4th edn. WHO, Geneva
370. WHO. World Health Organization. (2022). Drinking-water fact sheet [WWW Document], 3.21.2022. URL. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>.
371. WHO. (2018). Rotavirus infections. World Health Organization. Ανακτήθηκε από: <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/rotavirus-infections>
372. Wicki, M., Auckenthaler, A., Felleisen, R., Karabulut, F., Niederhauser, I., Tanner, M., Baumgartner, A., 2015. Assessment of source tracking methods for application in spring water. *J. Water Health* 13, 473e488. <https://doi.org/10.2166/wh.2014.255>
373. Williams, R.C.; Farkas, K.; Garcia-Delgado, A.; Adwan, L.; Kevill, J.L.; Cross, G.; Weightman, A.J.; Jones, D.L. Simultaneous detection and

- characterization of common respiratory pathogens in wastewater through genomic sequencing. *Water Res.* 2024, 256, 121612.
374. Wohlgemuth, N., Honce, R., & Schultz-Cherry, S. (2019). Astrovirus evolution and emergence. *Infection, Genetics and Evolution*, 69, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.01.009>
 375. Wong K, Xagorarakis I. Quantitative PCR assays to survey the bovine adenovirus levels in environmental samples. *J Appl Microbiol* 2010;109:605–12
 376. Wong, M.V.; Hashsham, S.A.; Gulari, E.; Rouillard, J.M.; Aw, T.G.; Rose, J.B. Detection and characterization of human pathogenic viruses circulating in community wastewater using multi target microarrays and polymerase chain reaction. *J. Water Health* 2013, 11, 659–670.
 377. Wu, F.; Xiao, A.; Zhang, J.; Moniz, K.; Endo, N.; Armas, F.; Bonneau, R.; Brown, M.A.; Bushman, M.; Chai, P.R.; et al. SARS-CoV-2 RNA concentrations in wastewater foreshadow dynamics and clinical presentation of new COVID-19 cases. *Sci. Total Environ.* 2022, 805, 150121.
 378. Wyer, M. D.; Fleisher, J. M.; Gough, J.; Kay, D. and Merrett, H. (1995). An investigation into parametric relationships between enterovirus and faecal indicator organisms in the coastal waters of England and Wales. *Water Res.*, 29(8): 1863–1868.
 379. Xagorarakis, I.; Yin, Z.; Svambayev, Z. Fate of Viruses in Water Systems. *J. Environ. Eng.* 2014, 140, 04014020.
 380. Xiao, S., Li, D., Tsai, Y.-L., Shisler, J., & Cao, Y. (2013). Occurrence and transport of enteric viruses in groundwater from confined bedrock aquifers. *Science of the Total Environment*, 452–453, 254–265. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.055>
 381. Yates, M. V. (2007). Classical indicators in the 21st century—far and beyond the coliform. *Water Environ. Res.*, 79(3): 279–286.
 382. Yates, M. V., Gerba, C. P., & Kelley, L. M. (1985). Virus persistence in groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(4), 778–781. <https://doi.org/10.1128/AEM.49.4.778-781.1985>
 383. Zaveri, E. D., Russ, J. D., Desbureaux, S. G., Damania, R., Rodella, A. S., and Ribeiro Paiva De Souza, G. (2020). The Nitrogen Legacy: The Long-Term Effects of Water Pollution on Human Capital. *World Bank Policy Research Working Paper*
 384. Zhang 2007 K., and Farahbakhsh, K., 2007, Removal of native coliphages and coliform bacteria from municipal wastewater by various wastewater

- treatment processes—Implications to water reuse: *Water Research*, v. 41, p. 2816–2824.
385. Zhang, C.M.; Xu, L.M.; Xu, P.C.; Wang, X.C. Elimination of viruses from domestic wastewater: Requirements and technologies. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2016, 32, 69.
 386. Zhang, Q., Gallard, J., Wu, B., Harwood, V.J., Sadowsky, M.J., Hamilton, K.A., Ahmed, W., 2019. Synergy between quantitative microbial source tracking(qMST) and quantitative microbial risk assessment (QMRA): a review and prospectus. *Environ. Int.* 130, 104703. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.051>. K. Farkas et al. / *Water Research* 181 (2020) 11592620
 387. Zheng, X.; Wang, Q.; Chen, L.; Wang, J.; Cheng, R. Photocatalytic membrane reactor (PMR) for virus removal in water: Performance and mechanisms. *Chem. Eng. J.* 2015, 277, 124–129.
 388. <https://www.sciencephoto.com/media/847806/view/human-aichi-virus-a-capsid>
 389. <https://j.mp/2VdQVpY>
 390. <https://www.thierry-corp.com/plasma-treatment-articles/best-way-to-address-bonding-challenges-in-microfluidic-devices>
 391. <https://ar.inspiredpencil.com/pictures-2023/pcr-instrument>
 392. https://www.researchgate.net/figure/Example-of-ultracentrifugation-setups-and-outcome-A-Example-of-ultracentrifugation_fig1_379808889
 393. <https://www.youtube.com/watch?v=qsWo8WdXw00>
 394. <https://www.askul.co.jp/p/J002844/>
 395. https://www.researchgate.net/figure/rus-adsorption-and-elution-VIRADEL-bench-top-apparatus-using-NanoCeram-R-positively-737_fig2_356411935
 396. https://waterresearchanddevelopmentconsultancy.com/virus-survival-in-water/?utm_source=chatgpt.com
 397. <https://www.turbosquid.com/3d-models/hev-virus-3d-max/656035>
 398. https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.981896/full?utm_source
 399. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3367355/figure/F2/0>
 400. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3367355/figure/F1/>
 401. https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%99%CF%8C%CF%82_%CE%A1%CF%8C%CF%84%CE%B1

402. <https://www.katioua.gr/koinonia/perivallon/mia-eikona-chilies-lekseis-aformi-tin-pagkosmia-imera-nerou>
403. <https://www.shutterstock.com/el/video/clip-3679606233-polluted-river-industrial-domestic-effluents-toxic-foam?msockid=14ef8e0071576db417809a61704b6cc>
404. <https://www.e-synews.gr/2021/01/27/ta-megala-astika-kentra-prokaloy-n-molynsi-ton-ydaton/>
405. https://www.researchgate.net/figure/llustrations-of-selected-waterborne-human-viruses-and-bacteriophages-Representations-of_fig1_364176728
406. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11133282/>
407. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8618259/?utm_source
408. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.00028-17>
409. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-014-9340-8>
410. https://repository.si.edu/items/81807b3f-1c66-42f8-9e8c-d594bce44d58?utm_source=chatgpt.com

