

# 贵阳市 2023 年 1 034 份城市污水 新型冠状病毒监测结果分析

黄金金<sup>1</sup>, 倪德航<sup>1</sup>, 徐素芹<sup>1</sup>, 周建松<sup>2</sup>, 简洁<sup>2</sup>, 洪峰<sup>1</sup>, 袁飞<sup>1,2</sup>, 蒋家俊<sup>2</sup>

1. 贵州医科大学公共卫生与健康学院, 环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵州 贵阳 561113;

2. 贵阳市疾病预防控制中心, 贵州 贵阳 550018

**摘要:**目的 了解贵阳市 2023 年 2—12 月污水中新型冠状病毒(SARS-CoV-2)含量和基因变异情况。方法 采用荧光定量 PCR 方法完成了 1 034 份污水样本的 *ORF1ab* 基因和 *N* 基因浓度的检出, 使用 Illumina 测序平台完成病毒全基因组测序。结果 在收集到的 1 034 份样本中, 检测出 587 份 SARS-CoV-2 阳性样本, *ORF1ab* 基因浓度中位数为 3.69 拷贝/ml, *N* 基因浓度中位数为 7.57 拷贝/ml, 污水中 SARS-CoV-2 的浓度与医疗机构报告病例数之间存在相关性。对 5 份 Ct<32 的 SARS-CoV-2 阳性样本利用测序平台完成了全基因组测序, 平均覆盖度在 63.91%~97.28% 之间, 病毒分型均为奥密克戎亚分支, 共鉴定出 110 个突变位点, S 蛋白共鉴定出 22 个氨基酸的改变, 其中包括关键突变 E484A。结论 贵阳市城市污水中新型冠状病毒检出率较高, 病毒浓度与临床病例具有良好相关性, 应用全基因组测序技术, 检测污水中病毒遗传物质的变异株组成情况, 并鉴别出多个变异位点, 通过对城市污水病毒监测, 能有效地对疾病的时空趋势进行把握, 是临床检测的重要补充, 为地方政府实施精确疫情防控政策提供参考。

**关键词:** 污水流行病; 新型冠状病毒; 城市污水; 基因测序; 变异

中图分类号: R123 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)23-4392-06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202407091

## Analysis of urban sewage SARS-CoV-2 monitoring results in Guiyang city in 2023

HUANG Jin-jin\*, NI De-hang, XU Su-qin, ZHOU Jian-song, JIAN Jie, HONG Feng, YUAN Fei, JIANG Jia-jun

\*School of Public Health and Health, Guizhou Medical University, Key Laboratory of Environmental Pollution and Disease Monitoring, Ministry of Education, Guiyang, Guizhou 561113, China

**Abstract: Objective** To investigate the concentration and genetic variations of SARS-CoV-2 in sewage in Guiyang city from February to December 2023. **Methods** A total of 1 034 sewage samples were analyzed for *ORF1ab* and *N* gene concentrations using quantitative PCR, and full viral genome sequencing was performed using the Illumina sequencing platform. **Results** Among the 1 034 samples collected, 587 were tested positive for SARS-CoV-2. The median concentration of the *ORF1ab* gene was 3.69 copies/ml, and the median concentration of the *N* gene was 7.57 copies/ml. There was a correlation between the concentration of SARS-CoV-2 in sewage and the number of reported cases from medical institutions. Full genome sequencing was conducted on five SARS-CoV-2 positive samples with CT values <32, achieving an average coverage ranging from 63.91% to 97.28%. All viral types identified were Omicron sub lineages, with a total of 110 mutation sites identified. The S protein exhibited 22 amino acid changes, including the critical mutation E484A. **Conclusion** The detection rate of SARS-CoV-2 in urban sewage in Guiyang city is relatively high, and the viral concentration correlates well with clinical cases. The application of whole genome sequencing technology allows for the detection of genetic variants in the viral material present in sewage and identifies multiple mutation sites. Monitoring viruses in urban sewage effectively captures the spatiotemporal trends of the disease, serving as an important complement to clinical testing and providing a reference for local governments to implement precise epidemic prevention policies.

**Keywords:** Sewage epidemiology; SARS-CoV-2; Urban sewage; Gene sequencing; Variants

基金项目: 2024 年度贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzkwkj-2024-491)

作者简介: 黄金金(1999—), 女, 硕士在读, 研究方向: 实验室病原监测

通信作者: 袁飞, E-mail: yuanfei74@163.com

新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV-2)是引起新型冠状病毒感染的病原体。据世界卫生组织统计,截至 2024 年 2 月,全球累积超过 7.7 亿确诊病例<sup>[1]</sup>。新冠病毒在世界造

成大流行,并存在多种变异体,这些突变主要是由于病毒刺突 S 糖蛋白的多次改变所引起<sup>[2]</sup>。在五个“关切变异株”中,奥密克戎的传播力和免疫逃逸能力显著增强,在 2022 年初代替其他变异体成为优势流行变异株<sup>[3-4]</sup>。新型冠状病毒主要通过呼吸道飞沫和密切接触传播,部分患者会出现腹泻症状,病毒颗粒通过粪便脱落,在呼吸道样本中不能检测出新冠病毒后,仍能通过粪便检测<sup>[5-6]</sup>。2020 年,澳大利亚首次报道在污水中检测到新冠病毒<sup>[7]</sup>,随后,研究人员将基于污水的流行病学(wastewater-based epidemiology, WBE)应用于新型冠状病毒的监测,且可量化污水中的新冠病毒浓度推断污水采样覆盖范围人群的疫情情况,从而调整防控措施<sup>[8]</sup>。部分区域将基因组测序纳入污水监测中,美国的一项研究将污水中新型冠状病毒的单核苷酸变异(single nucleotide polymorphism, SNV)与临床患者基因组测序中检测到的单核苷酸变异进行了比较,确定了超过一半的单核苷酸变异是在全球范围内未在临床样本中发现的新型单核苷酸变异<sup>[9]</sup>;奥地利的一项全国范围的研究通过污水样本推断时空丰度<sup>[10]</sup>,并可实现在临床样本之前识别新的变异体<sup>[11]</sup>。为了探究城市污水中新冠病毒监测对覆盖区域人群疾病流行情况的反映效果,本研究分析了 2023 年 2—12 月贵阳市主城区 11 座污水处理厂的 1 034 份污水样本的新型冠状病毒核酸监测结果。

## 1 材料与方法

**1.1 污水样本收集** 为确保采样方法的一致性,本研究选取贵阳市主城区 11 座拥有自动采样器的污水处理厂进行污水样本的收集,自 2023 年 2 月 9 日起,每周两次从贵阳市的 11 座污水处理厂收集 24 h(早上 10 点至次日早上 10 点)混合样本,每小时采样 100 ml,共 2 400 ml。

**1.2 医院新冠病例的收集** 从贵阳市各个医疗机构获取 2023 年 2—12 月内贵阳市新型冠状病毒感染病例情况。

**1.3 样本前处理方法** 样本参照 WS/T799-2022《污水中新型冠状病毒富集浓缩和核酸检测方法标准》中铝盐混凝沉淀法进行前处理:将 50 ml 的污水样本于 4℃、2 500 × g 条件下进行预离心 30 min 后,留取上清液;预离心后的上清液转移至 100 ml 螺口锥形瓶中,加入 0.5 ml 0.3 mol/L 的氯化铝溶液,用 1 mol/L 氢氧化钠溶液或 1 mol/L 盐酸溶液调节水样 pH=(6.0 ± 0.1)。将螺口锥形瓶盖拧紧,置于恒温振荡培养箱中,以 150 r/min 的速度在室温下混合 15 min 后,在 4℃、1 900 × g 离心 5 min;弃除离心管中的上清液,在剩余胶体中加入(0.20 g ± 0.01) g 乙二胺四乙酸二钠二水

合物,摇晃数十次至胶体变为液态,转移至 10 ml 离心管中。将 10 ml 离心管置于水浴锅中,60℃水浴 10 min 后得到富集浓缩的污水样本。

**1.4 核酸的提取与定量** 富集浓缩后的污水样本利用天隆全自动核酸提取仪提取核酸,然后根据武汉明德生物科技新型冠状病毒 2019-nCoV 核酸检测试剂盒的操作步骤对核酸样本进行荧光 PCR 检测,根据荧光 PCR 扩增曲线和试剂盒说明书结果判读标准对结果进行判定。用新型冠状病毒核酸基因组标准物质制备标准曲线,通过荧光定量 RT-PCR 检测获得 Ct 值,以 Ct 值为横坐标、浓度的对数值为纵坐标绘制标准曲线,获得扩增效率和 R<sup>2</sup>。扩增效率在 90%~110%范围内,且 R<sup>2</sup> ≥ 0.99 时,标准曲线有效。用荧光定量 RT-PCR 检测污水核酸样本,将获得的 Ct 值带入标准曲线,计算核酸样本中新冠病毒的浓度,并根据实验操作过程将核酸样本中新冠病毒浓度换算成污水样本中每份样本的 ORF1ab 基因浓度和 N 基因浓度。

**1.5 新冠病毒全基因组测序** 将 Ct 值 < 32 的核酸样本进行进一步测序。根据 ULSEN<sup>®</sup>超灵敏度新冠病毒全基因组捕获试剂盒的操作步骤对新冠病毒全基因组进行逆转录和扩增,扩增完成的核酸加入磁珠进行纯化,利用 Qubit Tube 对样本的浓度进行测定,根据 NexteraXT DNA 文库制备试剂盒说明完成 DNA 文库构建。上机试剂盒为 MiSeq v3,在 Illumina 测序平台完成病毒全基因组测序。

**1.6 统计学分析** 采用 SPSS 23 进行数据分析,率的比较采用  $\chi^2$  分析,率的两两比较采用 Bonferroni 法,利用 Spearman 法进行相关性分析,检验水准  $\alpha=0.05$ 。全基因组测序结果通过杭州柏熠科技的分子溯源遗传分析系统上完成新冠病毒全基因组的序列的拼接、质量评估,并序列比对,分析核酸变异、氨基酸变异和完成基因分型(pangolin 分型)。

## 2 结果

**2.1 贵阳市 11 个污水处理厂新冠病毒检出情况** 2023 年 2—12 月共收集 11 座污水处理厂污水样本 1 034 份,对样本富集浓缩后进行实时荧光 RT-PCR 检测,11 座污水处理厂 SARS-CoV-2 总检出率为 56.77%,SARS-CoV-2 ORF1ab 基因浓度中位数为 3.69 拷贝/ml,N 基因浓度中位数为 7.57 拷贝/ml。11 座污水处理厂(A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、K)检出率分别为 43.62%、68.09%、52.13%、48.94%、72.34%、58.51%、55.32%、54.26%、71.28%、61.70%、38.30%,各个污水处理厂之间检出率差异具有统计学意义( $\chi^2=46.493, P<0.001$ )。不同污水处理厂间检出率进

行两两比较, 调整检验水准  $\alpha'=0.0009$ , 6 座污水处理厂 (C、D、F、G、H、J)SARS-CoV-2 检出率差异没有统计学意义; B 污水处理厂、E 污水处理厂、I 再生水厂与、A 污水处理厂、K 污水处理厂 SARS-CoV-2 检出率差异具有统计学意义。见表 1。

整个研究期间, 各个月均有 SARS-CoV-2 检出, 其中 5 月份检出率最高, 为 79.8%, 其次是 6 月, 检出率为 71.72%; 11 月检出率最低, 为 42.42%。不同月份之间检出率差异具有统计学意义 ( $\chi^2=44.021, P<0.001$ ), 各月份间检出率进行两两比较, 调整检验水准  $\alpha'=0.0009$ , 5 月、6 月检出率差异无统计学意义, 5 月与其余 9 个月差异有统计学意义; 6 月与 11 月检出率差异有统计学意义。病毒 ORF1ab 基因浓度与 N 基因浓度变化趋势大致相同, 2—12 月污水中新冠病毒浓度变化存在多个高峰, 在第 35 周(8 月第 4 周)达到高峰。见图 1。

表 1 贵阳市 2023 年 2—12 月污水样本新冠病毒检出情况

Table 1 Detection of SARS-CoV-2 in sewage samples in Guiyang city from February to December of 2023

月份	检测份数	检出[n(%)]	靶基因浓度中位数(拷贝/ml)	
			ORF1ab	N
2	77	39(50.65)	2.57	11.32
3	99	57(57.58)	3.36	12.23
4	88	46(52.27)	3.94	4.47
5	99	79(79.80)	6.57	17.87
6	99	71(71.72)	6.28	12.07
7	99	50(50.51)	3.12	7.23
8	99	55(55.56)	4.62	9.57
9	88	49(55.68)	5.71	7.88
10	99	55(55.56)	2.18	4.80
11	99	42(42.42)	2.40	3.68
12	88	44(50.00)	2.81	6.20
合计	1 034	587(56.77)	3.69	7.57

2.2 污水中病毒浓度与采样日污水处理量和污水处理厂服务人口数量的关系 通过对新冠病毒的 ORF1ab 浓度和 N 浓度分别与采样日污水处理量和污水处理厂服务人口进行 Spearman 秩相关分析, 发现采样日污水处理量和污水处理厂服务人口数量对新冠病毒在污水中的检出浓度不存在相关性。见表 2。

2.3 污水中病毒浓度与临床病例数的关系 在研究期间, 根据 Spearman 相关性分析结果显示, 污水处理厂样本 ORF1ab 基因浓度与 N 基因浓度表现出显著相关 ( $r_s=0.781, P<0.001$ ), ORF1ab 基因浓度与医疗机构报告病例数之间存在正相关关系 ( $r_s=0.441, P<0.05$ ), N 基因浓度与医疗机构报告病例数之间存在

正相关关系 ( $r_s=0.482, P<0.001$ )。N 基因浓度与医疗机构报告病例数之间的相关性略强于 ORF1ab 基因浓度的。污水中病毒基因浓度与临床病例数变化趋近一致。见图 2。

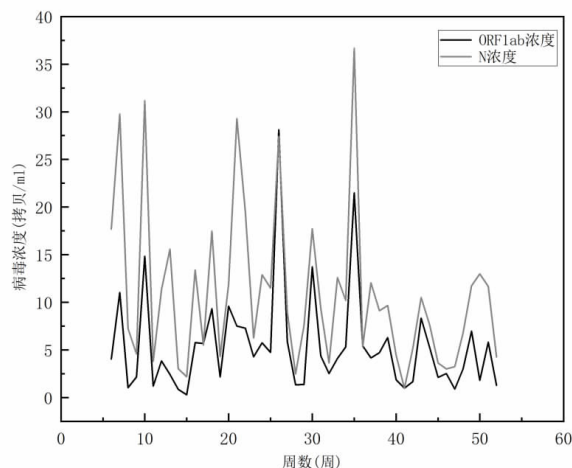


图 1 污水样本中新冠病毒 ORF1ab 靶基因和 N 靶基因浓度的时间分布

Figure 1 Temporal distribution of SARS-CoV-2 ORF1ab target gene and SARS-CoV-2 N target gene concentrations in sewage samples

表 2 ORF1ab 基因浓度、N 浓度与采样日污水处理量和污水处理厂服务人口相关性分析

Table 2 Correlation analysis of ORF1ab gene concentration and N Gene concentration with sampling day wastewater treatment volume and population served by wastewater treatment plants

靶基因	服务人口数量	采样日污水处理量
ORF1ab 浓度	相关系数 $r_s$	0.033
	P 值	0.448
N 浓度	相关系数 $r_s$	0.030
	P 值	0.482

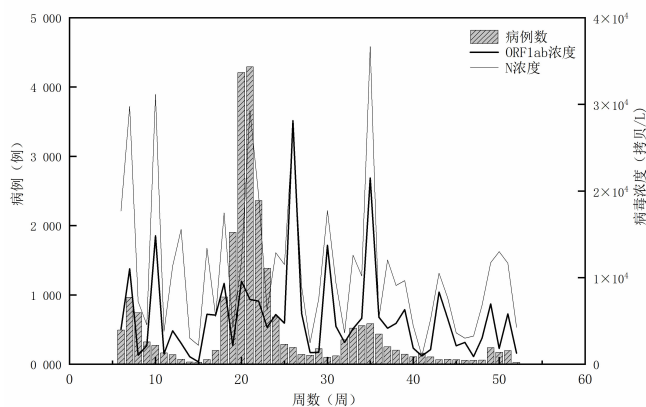


图 2 贵阳市污水样本中 ORF1ab 基因浓度、N 基因浓度与病例数比较

Figure 2 Comparison of ORF1ab gene concentration, N gene degree concentration, and number of cases in sewage samples from Guiyang city, China

## 2.4 新型冠状病毒基因测序结果

**2.4.1 污水样本中全基因组测序结果基本情况** 本研究共收集 587 份阳性样本,对于 Ct 值 <32 的 5 份阳性样本进行了全基因组测序。5 份样本平均覆盖深度为 220.45 ~ 9 049.88, 平均覆盖度为 63.91% ~

97.28%;pangolin 分型结果均为奥密克戎变异株,2 月份三份样本占比最高的变异株为 BF.7.14,6 月份两份样本占比最高的变异株为 FL.2.4,在同一月份不同污水厂之间的变异株构成不同。见表 3、图 3。

表 3 贵阳市 5 份污水样本全基因组测序结果

Table 3 Whole genome sequencing results of 5 wastewater samples in Guiyang city

污水处理厂	采样日期	ORF1ab 基因浓度 (拷贝/ml)	N 基因浓度 (拷贝/ml)	平均覆盖深度	平均覆盖度 (%)	Pangolin 分型
D 厂	2023/2/9	12.94	48.24	220.45	63.91	BA.2.86.1、BA.2.86.3、BF.7.14、XBB.1.16、XBB.1.24.3、XBB.1.5
I 厂	2023/2/9	11.4	57.22	688.49	64.62	BA.2.86.3、BF.7.14、BN.1.2、FR.1、XBB.1.24.3
E 厂	2023/2/9	17.9	60.21	1 291.49	81.04	BA.2.86.3、BF.7.14、BN.1.2、FR.1
B 厂	2023/6/12	27.62	86.48	7 568.7	96.88	BF.7.14、BN.1.2、FL.2.4、HK.2、JG.3、XBB.1.16.1、XBB.1.24.3、XBB.1.5
J 厂	2023/6/12	46.23	172.63	9 049.88	97.28	BF.7.14、BN.1.2、FL.2.4、HK.2、JG.3、JJ.1、XBB.1.16.1、XBB.1.24.3、XBB.1.5

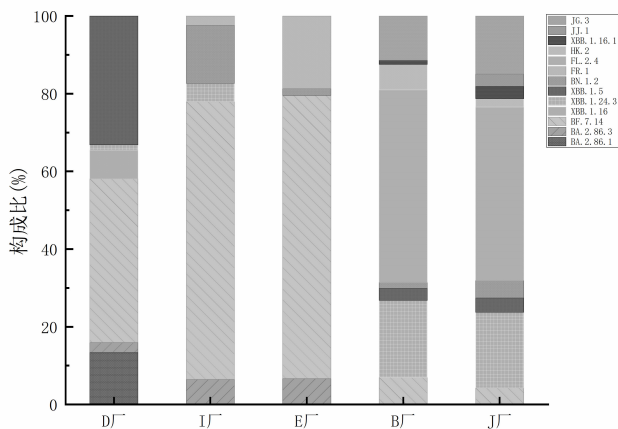


图 3 贵阳市 2023 年 5 份污水测序样本 SARS-CoV-2 变异株分型构成比

Figure 3 Comparison of typing composition of SARS-CoV-2 variants in five sewage sequencing samples in Guiyang city in 2023

**2.4.2 序列突变分析** 在完成污水测序的 5 份样本中共鉴定出 110 个突变位点,非同义突变占比 67.27%,涉及了 11 个编码区的突变(E、N、M、ORF10、ORF3a、ORF6、ORF7ab、基因间隔区 ORF7ab-ORF8、ORF8、S),发生突变最多的基因是 S 基因和 ORF1ab 基因,S 基因突变占 38.18%,ORF1ab 基因突变占比 33.64%。SARS-Cov-2 的感染能力主要取决于刺突表面蛋白(S 蛋白),刺突表面蛋白发生突变可能影响单克隆抗体的中和反应,从而变异体发生免疫逃逸在人群中传播<sup>[2]</sup>。本研究中 S 基因共鉴定出 42 个变异位点,引起 22 个氨基酸的改变,在改变的氨基酸中,其中 4 个来自对蛋白质相互作用至关重要的 17 个关键氨基酸。见表 4。

表 4 贵阳市 5 份测序样本中 SARS-CoV-2 病毒氨基酸变化情况

Table 4 Amino acid changes of SARS-CoV-2 virus in five sequenced samples from Guiyang city, China

样本编号	S 基因氨基酸变化
D 厂 2.9	L452R;E484A; Δ H69/V70
I 厂 2.9	L452R;E484A;F486V;C1243E; Δ H69/V70
E 厂 2.9	L452R;E484A;F486V;C1243E; Δ H69/V70
B 厂 6.12	Q52H;V83A;H146Q;Q183E;G257S;G339R;L68I;V445L;V445A;G446S;N460K;F486L;F486A;F490S
J 厂 6.12	V83A;H146Q;Q183E;G339R;L368I;V445L;V445A;G446S;N460K;F486L;F486S;F490S

## 3 讨论

在疫情常态化的背景下,本研究通过对贵阳市 2023 年 2—12 月 1 034 份城市污水样本中新型冠状病毒的监测,结合临床数据,了解人群中疫情的流行情况和变异情况。与之前奥地利、加拿大的研究相似<sup>[13-14]</sup>,污水中病毒的浓度与医院报告病例数关联性

强,无论是 ORF1ab 基因浓度还是 N 基因浓度都与医疗机构报告的病例呈现良好的相关性。自从 2023 年 1 月起中国新冠病毒调整为“乙类乙管”,强制性的核酸检测取消,临床样本变得稀缺,本研究的临床样本来自于贵阳市 6 个主城区的医疗机构报病卡信息,很大程度上反应的是症状相对严重需要到医院就医人

群的情况,污水样本的监测比临床样本更容易发现无症状感染者和轻症感染者,对城市污水样本的监测成了掌握疫情情况的重要补充。不同城市污水处理厂之间的阳性检出率不同,有报道称为 SARS-Cov-2 浓度与废水相关参数(PH、电导率、BOD5、COD、NH<sub>4</sub>、总氮、总磷、TSS)<sup>[15]</sup>呈现弱相关,本研究显示,新型冠状病毒浓度与采样日的进水流量和服务人口之间也不存在关联,侧面反映污水处理厂的规模大小对新冠病毒的浓度影响度小,针对不同规模的污水样本 SARS-CoV-2 的检测可以有效的反映不同区域的流行的变化,这对将污水流行病学应用于社区的精确疫情控制提供了科学的理论依据。

奥密克戎毒株是目前 SRAS-Cov-2 传播力最强的变异株,2021 年 11 月首次在南非发现<sup>[16]</sup>。本研究中 5 份测序样本发现的变异株均为奥密克戎毒株,2 月份占比最高的是 BF.7.4 毒株,六月份转为 FL.2 毒株,主要流行变异毒株的改变,引起了一波新的流行,这体现在 5 月、6 月医疗机构报告病例的上升,与之对应时间内,污水样本阳性检出率升高,病毒拷贝数升高。在同一采样时间,不同污水处理厂的测序样本变异株的构成比并不相同,表明对污水样本中新冠病毒的混合变异体的测序可以反映区域中变异株的流行情况,实现精准疫情防控。在 2 月份的 3 份测序样本中,从 BF.7.4 毒株中鉴定出 5 个 S 基因的突变,有 1 个(F486V)是蛋白质相互作用关键氨基酸。研究表明,E484 是 RBD 上的重要残基,已有研究证明 E484 的氨基酸替换为 K、Q、P 可以降低中和效价,发生 E484A 的突变,提示免疫逃逸能力增强<sup>[17]</sup>,2 月 9 日的 3 份污水测序样本中均检测到了 E484A 突变。有研究证明 L452R 突变可以降低几种单克隆抗体和中和反应,增加了感染风险<sup>[18]</sup>,在 2 月的 3 份污水样本中均检测到 L452R 突变,此外与病毒复制增加有关的 H69/V70 的缺失突变<sup>[19]</sup>也在污水样本中检测到。根据污水中 SARS-CoV-2 的突变信息,监测关键突变位点,有助于预测污水处理厂覆盖人群疾病感染风险。根据国家监测数据显示,2023 年 6 月主要流行毒株为 XBB 系列 EG.5.1.1,但在贵阳城市污水中,6 月的 2 份测序样本显示,占比最高的属于 FL.2.4 毒株,与当时流行的主要毒株并不相同,这也说明了在临床样本缺少测序数据的情况下,污水样本全基因组测序结果实现对地方疾病流行情况做出精确的掌握的能力。

本研究中能达到测序要求的污水样本较少,587 份阳性水样中仅完成了 5 份样本的测序,且有 2 份样本的平均覆盖度小于 80%,这与污水样本的特性有

关,污水中病毒浓度较低,污水样本中的复杂基质可能干扰或者抑制 PCR,在污水中的病毒一般是碎片化的状态,测序通量对基因的覆盖度也有影响<sup>[20]</sup>,这些原因限制了污水样本的有效测序。

本研究监测了贵阳市 2023 年 2—12 月,1 034 份城市污水样本,描述了污水中新型冠状病毒浓度与医疗机构报告数的相关性,此外,发现新型冠状病毒浓度与采样日的进水流量和服务人口之间不存在关联,由此说明城市污水中新冠病毒的监测对覆盖区域人群新冠病毒流行情况反映效果良好。通过将污水中新型冠状病毒载量的监测和全基因组测序监测结合起来能够有效的、及时的、全面的发现污水采样点覆盖范围人群新冠病毒的流行情况、流行的主要变异株以及变异位点情况,根据突变信息预测流行趋势,及时的为当地政府实施精准的疫情控制政策提供参考。

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

#### 参考文献

- [1] Anonym. COVID-19 cases| WHO COVID-19 dashboard[EB/OL]. [2024-10-19]. <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c>.
- [2] Abdool KS, De OT. New SARS-CoV-2 Variants—Clinical, public health, and vaccine implications [J]. *New England Journal of Medicine*, 2021, 384(19): 1866-1868.
- [3] Karim SSA, Karim QA. Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic [J]. *Lancet*, 2021, 398(10317): 2126-2128.
- [4] World Health Organization. COVID-19 epidemiological update, edition 163,19 January 2024 [M]. Geneva: World Health Organization, 2024.
- [5] Jones DL, Baluja MQ, Graham DW, et al. Shedding of SARS-CoV-2 in feces and urine and its potential role in person-to-person transmission and the environment-based spread of COVID-19[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 749: 141364.
- [6] Foladori P, Cutrupi F, Segata N, et al. SARS-CoV-2 from faeces to wastewater treatment: What do we know? A review [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 743: 140444.
- [7] Ahmed W, Angel N, Edson J, et al. 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[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 728: 138764.
- [8] Yang KW, Guo JL, Møhlenberg M, et al. SARS-CoV-2 surveillance in medical and industrial wastewater—a global perspective: a narrative review [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(23): 63323-63334.
- [9] Fontenele RS, Kraberger S, Hadfield J, et al. High-throughput sequencing of SARS-CoV-2 in wastewater provides insights into circulating variants [J]. *Water Research*, 2021, 205: 2021.01.22. 21250320.
- [10] Amman F, Markt R, Endler L, et al. Viral variant-resolved wastewater surveillance of SARS-CoV-2 at National scale[J]. *Nature Biotechnology*, 2022, 40(12): 1814-1822.

- [ 11 ] Jahn K, Dreifuss D, Topolsky I, et al. Early detection and surveillance of SARS-CoV-2 genomic variants in wastewater using COJAC [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(8): 1151-1160.
- [ 12 ] Chen KWK, Tsung-Ning HD, Huang LM. SARS-CoV-2 variants -Evolution, spike protein, and vaccines [J]. *Biomedical Journal*, 2022, 45(4): 573-579.
- [ 13 ] Schenk H, Heidinger P, Insam H, et al. Prediction of hospitalisations based on wastewater-based SARS-CoV-2 epidemiology [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 873: 162149.
- [ 14 ] Cheng L, Dhiyebi HA, Varia M, et al. Omicron COVID-19 case estimates based on previous SARS-CoV-2 wastewater load, regional municipality of peel, Ontario, Canada [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2023, 29(8): 1580-1588.
- [ 15 ] Sovova K, Vasickova P, Valasek V, et al. SARS-CoV-2 wastewater surveillance in the Czech Republic: Spatial and temporal differences in SARS-CoV-2 RNA concentrations and relationship to clinical data and wastewater parameters [J]. *Water Res X*, 2024, 23: 100220.
- [ 16 ] Tian DD, Sun YH, Xu HH, et al. The emergence and epidemic characteristics of the highly mutated SARS-CoV-2 Omicron variant [J]. *Journal of Medical Virology*, 2022, 94(6): 2376-2383.
- [ 17 ] Garcia-Beltran WF, Lam EC, St. Denis K, et al. Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity [J]. *Cell*, 2021, 184(9): 2372-2383.e9.
- [ 18 ] Zhang YN, Zhang T, Fang YH, et al. SARS-CoV-2 spike L452R mutation increases Omicron variant fusogenicity and infectivity as well as host glycolysis [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 76.
- [ 19 ] Meng B, Kemp SA, Papa G, et al. Recurrent emergence of SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70 and its role in the Alpha variant B.1.1.7 [J]. *Cell Reports*, 2021, 35(13): 109292.
- [ 20 ] Xu XQ, Deng Y, Ding JH, et al. Wastewater genomic sequencing for SARS-CoV-2 variants surveillance in wastewater-based epidemiology applications [J]. *Water Research*, 2023, 244: 120444.

收稿日期: 2024-07-09

(上接第 4359 页)

- Geriatric Nursing, 2023, 53: 50-56.
- [ 19 ] 冯子航, 祝亚宁, 孙颖, 等. 社区慢性病老年人认知功能潜在类别分析及影响因素研究 [J]. *中国全科医学*, 2024, 27(26): 3289-3296.
- Feng ZH, Zhu YN, Sun Y, et al. Latent class analysis and influence factors study of cognitive function among older People with chronic diseases in community [J]. *Chinese General Practice*, 2024, 27(26): 3289-3296. (In Chinese)
- [ 20 ] 向京沙. 住院 II 型糖尿病患者轻度认知功能障碍现状研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2022.
- Xiang JS. A study on the current status of mild cognitive dysfunction in hospitalised type II diabetes mellitus patients [D]. Changsha: Central South University, 2022. (In Chinese)
- [ 21 ] 李思齐, 史铁英, 郭宏, 等. 抑郁在养老机构老年人社会资本与认知功能间的中介效应 [J]. *中国实用护理杂志*, 2023, 39(11): 838-844.
- Li SQ, Shi TY, Guo H, et al. The mediating effect of depression between social capital and cognitive function of the elderly in nursing institutions [J]. *Chinese Journal of Practical Nursing*, 2023, 39(11): 838-844. (In Chinese)
- [ 22 ] Chen JT, Wang XY, Xu ZR. The relationship between chronic pain and cognitive impairment in the elderly: a review of current evidence [J]. *Journal of Pain Research*, 2023, 16: 2309-2319.
- [ 23 ] 于婷婷, 张永东. 首发抑郁症患者心理弹性与认知功能损伤关系的研究 [J]. *心理月刊*, 2024, 19(14): 64-66.
- Yu TT, Zhang YD. A study of the relationship between psychological resilience and cognitive impairment in patients with first-episode depression [J]. *Psychologies Magazine*, 2024, 19(14): 64-66. (In Chinese)
- [ 24 ] 郑梅, 高莉玲, 高桦, 等. 抑郁症共病慢性疼痛患者焦虑情绪与疼痛强度、疼痛敏感性的相关性研究 [J]. *神经疾病与精神卫生*, 2024, 24(3): 170-176.
- Zheng M, Gao LL, Gao H, et al. Correlation study of anxiety with pain intensity and pain sensitivity in patients with depression co-morbid chronic pain [J]. *Journal of Neuroscience and Mental Health*, 2024, 24(3): 170-176. (In Chinese)

收稿日期: 2024-06-27