

Эпидемиология на основе анализа сточных вод. Оценка потребления этанола и никотина

Рожанец В.В.¹

к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории аналитической токсикологии

Jang Mongjoo (Чжан Мончжу)² аспирант кафедры аналитической химии, химический факультет

1 — Национальный научный центр наркологии, филиал

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России
119002, г. Москва, Малый Могильцевский пер., 3

2 — ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1., стр.3

Автор для корреспонденции: Рожанец Владимир Всеволодович; e-mail: vladimirroz@mail.ru

Финансирование. Работа не имела спонсорской поддержки

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 31.05.2017

Представлены данные о новом направлении в эпидемиологии (*Wastewater-based epidemiology, WBE* или *Sewage-based epidemiology, SBE*), основанном на анализе содержания в сточных водах специфических маркеров потребления алкоголя, никотина и нелегальных наркотиков, экскретируемых с мочой. Освещены основные методические приемы, включая пробоподготовку, аналитические методы и методы расчета. Приведены исчерпывающие данные научной литературы об исследовании потребления этанола и никотина в десятках городов Европы, США, Канады и Австралии. Излагаются результаты сравнения аналитических данных, полученных с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии с результатами традиционных эпидемиологических исследований. Представлены результаты оценки эпидемиологического риска употребления этанола при помощи определения коэффициента запаса экспозиции (*margin of exposure, MOE*). Изложены данные о возможности использования метаболитов никотина в качестве популяционных маркеров для определения численности населения, охватываемого очистными сооружениями, а также в качестве предикторов употребления незаконных наркотиков.

Ключевые слова: эпидемиология, сточные воды, высокоэффективная жидкостная хроматография, UPLC-MS, этанол, алкоголь, никотин, табак, оценка потребления.

Введение

Развитие методов аналитической токсикологии сделало возможным выявление специфических продуктов метаболизма лекарственных средств, алкоголя, табака и наркотиков, выделяемых потребителями с мочой, при анализе сточных вод, поступающих на очистные сооружения. В большинстве современных источников этот подход обозначают термином «Эпидемиология на основе анализа сточных вод» (*Wastewater-based epidemiology, WBE* или *Sewage-based epidemiology, SBE*) [33, 69, 70].

Столь же общепринятым в зарубежной литературе является подразделение наркотических средств на легальные (*legal drugs*), куда относят этанол и никотин, и незаконные (*illegal drugs*), куда относят все остальные контролируемые психотропные соединения, что соответствует терминологии Управления ООН по наркотикам и преступности, UNODC [67].

В настоящее время работы в этом направлении проводятся во всем мире несколькими исследова-

тельскими группами. В Европе они координируются Европейским центром мониторинга наркотиков и наркомании (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA) [24]. С 2010 года функционирует общеевропейская сеть (*Sewage Analysis CORE group Europe — SCORE group*), задачей которой является координация международных исследований путем создания общего протокола действий. К 2016 году участники этой группы из 28 стран провели мониторинг очистных сооружений более 70 европейских городов [57].

Высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с методами масс-спектрометрии обеспечивают выявление исследуемых (целевых) соединений или специфических маркеров их метаболизма в стоках при концентрации порядка 10^{-9} г/л и ниже [8, 28]. Этот подход в сочетании со специальными методами расчета, позволяет вычислить потребление лекарственных средств, алкоголя, табака и незаконных наркотиков на душу населения в популяции по количеству их биомаркеров (аналитов) в стоках в режиме реального времени [9].

Очевидными условиями выявления целевых соединений или специфических метаболитов интересующих соединений является преимущественная экскреция с мочой и устойчивость в условиях реальных стоков на протяжении нескольких часов [28, 51].

Первоначально возникший около десяти лет назад для оценки влияния промышленных и домашних стоков на окружающую среду [35, 37], в настоящее время этот подход широко используется для мониторинга потребления лекарственных средств, алкоголя, табака и незаконных наркотиков в режиме реального времени [11, 16, 25, 35, 49, 68, 80, 81]. Тот же подход используется в так называемой «судебной эпидемиологии» и рассматривается в качестве одного из инструментов борьбы с терроризмом [21].

Актуальность этого направления подтверждается растущим числом научных исследований. Так, количество публикаций по поисковому запросу [(Wastewater OR sewage) AND drug] в базе данных PubMed на 18.05.2017. составляет 7869, из них 701 приходится на 2016 год.

Материал и методы исследования

Отбор и подготовка проб

Как правило, отбор проб для анализа осуществляется на входе очистных сооружений после первой ступени механической очистки с помощью автоматизированных пробоотборников в заданном режиме [47, 48, 50]. Эффективность очистки стоков оценивают, отбирая пробы на входе и выходе очистных сооружений. После отбора пробы либо хранят при исходном нейтральном pH, либо закисляют HCl, либо обрабатывают метабисульфитом, далее охлаждают до 4°C или замораживают до -20°C и транспортируют в лабораторию. Срок хранения проб зависит от природы и устойчивости аналитов и составляет от нескольких часов до недель [7, 59, 62]. Дальнейшая пробоподготовка включает в себя фильтрацию или центрифугирование,

добавление внутренних стандартов, твердофазную экстракцию, элюцию органическим растворителем и упаривание. В качестве внутренних стандартов используют аналиты, меченные стабильными изотопами водорода — ^2H (D) [18], реже — углерода ^{13}C [58].

Аналитические методы

Для анализа используют высокоэффективную (ВЭЖХ, HPLC) и сверхэффективную (СВЭЖХ, UPLC) жидкостную хроматографию. Идентификацию соединений проводят с помощью масс-спектрометров (MS), в том числе с помощью установок высокого разрешения (МС-МСВР, HRMS) с тройным квадрупольным детектором (QqQ), tandemным квадруполь-времяпролетным детектором точных масс (QTOF MS), или масс-селективным детектором типа линейной ионной ловушки (LTQ или LTQ XL) производства различных фирм [1, 8].

Важнейшими элементами валидации метода являются оценка стабильности аналитов, определение чувствительности, избирательности, линейности, воспроизводимости и точности анализа, полноты экстракции и характера матричных эффектов [21, 34]. Для определения примеси токсичных металлов используют масс-спектрометрию с индуктивно-связанной плазмой, ИСП-МС (ICP-MS) [47].

Метод расчета

Классическим подходом является метод обратного расчета (*back calculation*), основанный на измерении содержания аналита в образце, учете данных о количественном соотношении аналита и интересующего соединения, его стабильности, температуре и суммарном объеме стоков, скорости потока, степени загрузки системы ливневыми и промышленными стоками и количества жителей, охватываемых конкретной очистной системой. Наличие этих переменных дает возможность рассчитать и суммарное потребление интересующего соединения, и уровень его потребления на душу населения. Один из вариантов расчета потребления вещества i может быть представлен следующим уравнением [44]:

$$\text{Потребление}_i = \frac{Q \times c_i \times m_i}{P \times e_i \times p_i}$$

где:

Q — объем сточных вод;

c_i — концентрация вещества i ;

m_i — соотношение молекулярных масс вещества i и маркера;

P — размер популяции;

e_i — фармакокинетически обоснованный процент секреции маркера вещества i ;

p_i — чистота соединения i .

Количество публикаций за 20 лет в базе PubMed: (wastewater OR sewage) AND drug

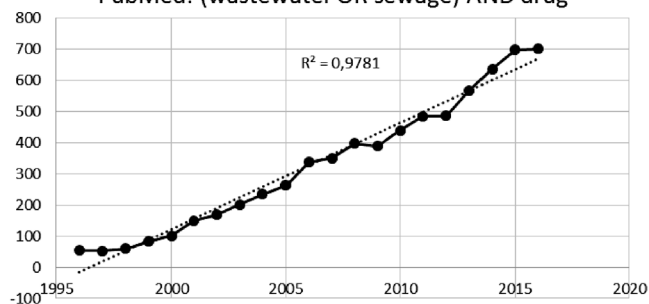


Рис. 1. Количество публикаций в базе данных PubMed: (Wastewater OR sewage) AND drug

В ряде случаев, например, при исследовании потребления табака, алкоголя или наркотиков используют такие показатели, как количество сигарет или средних доз [16].

Если концентрацию и стабильность аналита, как и гидродинамические параметры стоков можно оценить напрямую, то количество жителей, обслуживаемых данной системой, является, как правило, косвенным комплексным показателем, основанным на данных переписи населения, сведениях о пассажиропотоках, туристической и рекреационной нагрузке и т.д. [20, 42]. В случаях, когда эти значения недоступны или весьма приблизительны [40], используют способы объективизации популяционной нагрузки по показателям самих стоков — их биологической (биохимической) и химической потребности в кислороде (БПК и ХПК соответственно), содержанию азота, фосфора и иона аммония (NH_4^+) [9, 41, 45, 79]. Однако эти параметры сильно зависят от объема промышленных и ливневых стоков, что может искажать популяционные показатели [5].

В качестве альтернативы для объективной оценки численности населения, обслуживаемого данной очистной системой, в последние годы используют содержание в стоках определенных маркеров, однозначно указывающих на общее количество жителей, так называемых антропогенных или популяционных биомаркеров. Наиболее информативными антропогенными биомаркерами являются котинин и 5-гидроксииндолуксусная кислота (5-HIAA) [19] (рис. 2), и в несколько меньшей степени — метаболиты кофеина [14, 22, 58].

Этанол

Высокая скорость окисления этанола и ацетальдегида и быстрая элиминация продуктов их окислительного метаболизма ограничивает возможность использования этих соединений в качестве маркеров его употребления [2, 3].

Специфическими прямыми маркерами употребления этанола, выявляемыми в моче человека в течение нескольких суток после того, как сам спирт в биологических жидкостях не определяется, являются продукты его неокислительного метаболизма — этилглюкоронид (EtG) и этилсульфат (EtS) [4, 15, 29, 30, 34, 46, 75]. Несмотря на то, что содержание EtG и EtS в моче не превышает 0,02% и 0,011% соответственно от исходной дозы этанола [23, 30, 78], эти маркеры уверенно определяются в моче спустя несколько часов даже после употребления «безалкогольных» пива и вина, квашеной капусты, апельсинового сока, зрелых бананов или использования спирто-содержащих полосканий для рта [54, 63]. Эти маркеры могут быть выявлены также в высушенных каплях

мочи [52]. Третьим маркером недавнего употребления этанола является соотношение 5-гидрокситриптофола (5-HTOL) и 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-HIAA) в моче, увеличивающееся после употребления спиртных напитков [13, 38].

Из этих трех мочевых маркеров употребления этанола наибольшей стабильностью обладает EtS. Его содержание в сточных водах при комнатной температуре практически не изменяется, по разным данным, от 18 часов до недели [50, 54]. Он устойчив к бактериальному гидролизу и, в отличие от этилглюкоронида, не образует в стоках при вероятной ферментации [72]. Пиковая концентрация EtS в моче достигается через 2—4 часа; более 90% его выводится из организма в течение 12 часов после употребления алкоголя [77]. Все исследования уровня потребления этанола на основе анализа стоков выполнены с использованием EtS (табл. 1).

В исследовании норвежских авторов показано, что суммарное потребление алкоголя в Осло, определенное с помощью обратного расчета по содержанию EtS в стоках, находится в пределах 4900—7800 кг/день, что хорошо согласуется с данными об уровне реализации алкогольной продукции в городе, составляющем 6750 кг/день [50]. Индивидуальный расчетный уровень потребления этанола ($\approx 16,1$ мл/день/чел.) практически совпадает с национальными данными (Statistics Norway, 2010) по реализации легальной алкогольной продукции (табл. 1).

Хорошее совпадение аналитических и статистических оценок, выявленное в Норвегии, объясняется жестким государственным контролем над импортом и продажей алкогольных напитков, что обеспечивает едва ли не самую точную статистику продаж алкоголя в мире. Показано, что 61% еженедельного потребления алкоголя в Осло приходится на пятницу и субботу, тогда как в другие дни, включая воскресенье, оно составляет лишь 6—11% от еженедельного потребления [50] (рис. 3).

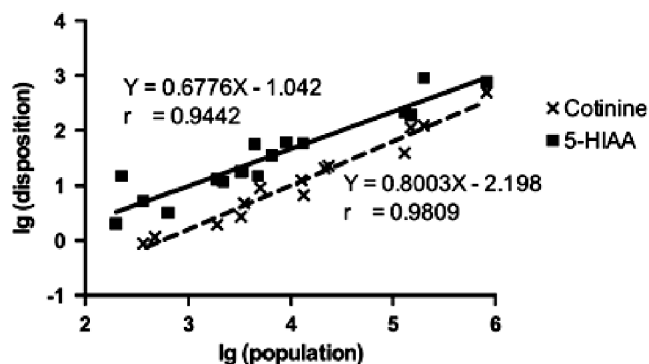


Рис. 2. Корреляция между численностью популяции, определённой по результатам переписи, и содержанием в стоках котинина и 5-HIAA. Суммарные данные для 17 городов Южной Австралии [19].

Показано, что расчетные аналитические значения индивидуального потребления этанола, выявленные в трех городах Испании (Барселона, Сантьяго-де-Компостела, Валенсия), сравнимы с уровнем потребления этанола в Осло (табл. 1). Проведенное в рамках одного и того же исследования сравнение индивидуального потребления этанола на протяжении трех лет в Сантьяго-де-Компостела и Милане выявило, что потребление алкоголя в этом испанском городе достоверно выше, чем в Милане [53].

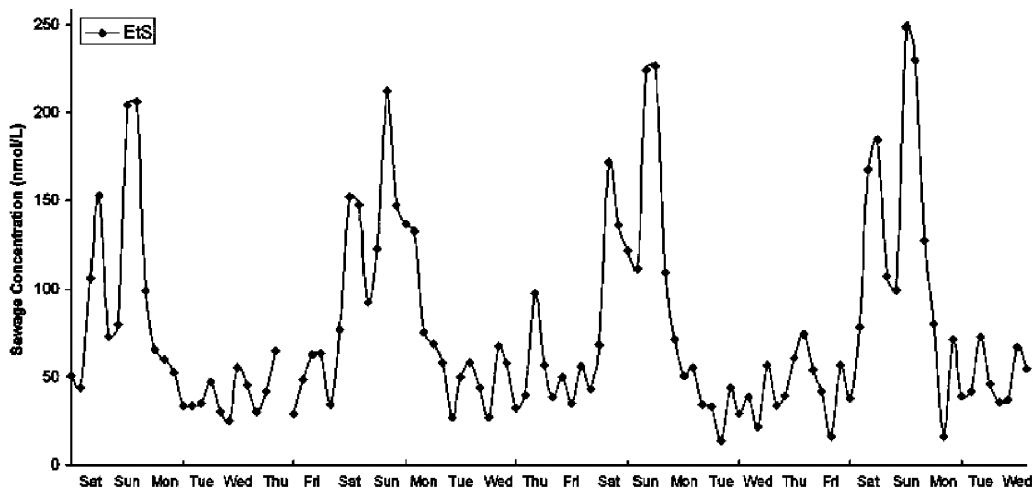


Рис. 3. Концентрации этилсульфата в сточных водах Осло по дням недели, 05—30 сентября 2009 г. [50].

Таблица 1

Исследования потребления этанола с помощью анализа сточных вод на содержание этилсульфата

№	Страна, область, объект, количество жителей, год, длительность отбора проб (дни)	Расчетный суммарный уровень потребления этанола, кг/день	Расчетный индивидуальный уровень потребления этанола, мл/день/чел.	Уровень индивид. потребления из других источников, мл/день/чел.	Источник
1	Норвегия, Осло, 500 000 чел., 2009, 25 дней	4900—7800	12,4—19,8 (≈16,1)*	17,1 (розничная продажа)	[50]
2	Испания, Барселона, 1 157 000 чел., 2013, 7 дней	10 700—24 894 (≈16600)	12,0—27,0 (≈18)	32 ВОЗ, 2005	[27]
3	Испания, Галиция, город не указан, 100 000 чел., 2012, 1 день	1060—2538	9,8—25,5 (≈16,3)	32 ВОЗ, 2005	[54]
4	Испания, Сантьяго-де-Компостела, 136 500 чел., 2012, 2013, 2014, 7—8 дней Италия, Милан, 1 150 000 чел.,*** 2012, 2013, 2014, 14—18 дней	—	3,8—22,6** (≈13,6) 3,2—10,5** (≈5,1)	26,2 ВОЗ, 2014	[53]
5	Испания, Валенсия, 500 000 чел., 2014, 17 дней (праздник Фальяс)	258—5749	1,1—56,1	45 ВОЗ, 2014	[5]
6	Бельгия, 7 городов, 1 600 000 ч., по 7 последовательных дней, 2013—2015 гг., Σ = 163 дня		15,34**	30,14 ВОЗ, 2014	[12]
7	Бельгия, Лир, 37 236 чел., 2014, четыре двухнедельных периода		11,8	30,14 ВОЗ, 2014	[71]
8	Греция, о. Лесбос, г. Митилини, 26 000 чел., поселок, 1250 чел.		5,4 3,4	30,14 ВОЗ, 2014	[27]

Примечание: данные приведены в расчете на лиц старше 15 лет; * — согласно расчетам [53]; ** — среднее значение за три года измерений; *** — численность населения определена по величине биологического потребления кислорода [45].

В отличие от Осло, максимальное потребление алкоголя в городах Испании отмечено с пятницы по воскресенье включительно [7, 43], тогда как в Милане — в субботу и воскресенье. Увеличение потребления алкоголя в эти дни по сравнению с буднями составляет для Сантьяго-де-Компостела 72%, для Барселоны 73%, для Милана 78%, что резко контрастирует с приростом потребления в Осло, составляющим в пятницу и субботу 300% от потребления алкоголя в будни [50, 53].

Существенные и ожидаемые изменения в расчетном индивидуальном уровне потребления этанола наблюдаются во время праздников. Так, в Валенсии, в период весеннего праздника Фальяс, помимо увеличения потребления алкоголя в субботу и воскресенье в среднем в 3,5 раза, в разгар праздника отмечено увеличение этого показателя по сравнению с буднями примерно в 6 раз [5].

Репрезентативное исследование потребления этанола с помощью анализа сточных вод проведено в семи городах Бельгии, население которых составляет 12% от общей численности жителей страны. Анализ проб, полученных за 2013—2015 гг., показал, что максимальное потребление этанола наблюдается в Брюсселе и центральной части Антверпена, тогда как в пригородах Антверпена, а также, в небольших городах — Герардсбергене, Лире, Нинове, Остенде, Вульпене этот показатель примерно в 1,5 раза ниже [12].

Важно отметить, что расчетные аналитические уровни индивидуального потребления алкоголя как в городах Испании и в Милане за 2012—2014 гг., так и в Бельгии за 2013—2015 гг., оказались существенно ниже величин, полученных с помощью традиционных эпидемиологических методов. Так, по данным Всемирной Организации Здравоохранения, для Испании эти величины выше расчетных показателей в среднем на 40%, для Италии — на 70%, для Бельгии — на 50—60% (табл. 1).

Вероятными причинами таких различий называют отсутствие жесткого государственного регулирования и учета продаж, несовпадение сроков реализации и потребления алкоголя, наличие экспортных закупок туристами, предвзятость оценок пользователей при интервьюировании и особенности местного характера потребления [56]. Нельзя исключить ряда неточностей в методах анализа и расчета, особенно, в определении реального количества жителей, обслуживаемых данной системой очистки [17]. Впрочем, столь значительные расхождения аналитических и статистических результатов наблюдаются лишь при их сравнении с данными ВОЗ, а не с локальной статистикой продаж алкогольной продукции (табл. 1). Исчерпывающего объяснения этого факта в настоящее время нет [71].

Существенный вклад в эпидемиологическую оценку результатов, полученных с помощью анализа сточных вод на содержание EtS, был внесен беспрецедентным международным исследованием, проведенном практически одновременно по согласованному протоколу 14 исследовательскими группами в Европе, Канаде и Австралии в 2014 г. [56]. Исследование охватывало 20 городов и 23 очистных сооружения в 11 странах с общим населением 17 млн чел. Концентрацию EtS измеряли в объединенных 24-часовых образцах, собранных в течение недели. Полученные данные использовали для оценки потребления алкоголя на душу населения в каждом городе, сравнения этих показателей со статистическими данными ВОЗ (WHO) и Европейского центра мониторинга наркотиков и наркомании (EMCDDA). Далее эти результаты применяли для оценки эпидемиологического риска выявленного уровня употребления этанола с помощью подхода *margin of exposure* (МОЕ).

Величина МОЕ (приблизительный перевод — коэффициент запаса экспозиции) для токсических веществ равна отношению токсикологического порога или пороговой дозы (*benchmark dose*) к величине реального потребления человеком. В свою очередь, реальное потребление человеком рассчитывается как на индивидуальном, так и на популяционном уровне, а саму величину МОЕ рассчитывают с использованием вероятностного моделирования методом Монте-Карло, с учетом всех неопределенностей и допущений. По определению наименьшему эпидемиологическому риску соответствуют минимальные значения величины МОЕ.

Авторы этого метода сравнительной оценки риска употребления наркотиков полагают, что на индивидуальном уровне в группу соединений с «высоким риском» ($МОЕ < 10$) входят алкоголь, никотин, кокаин и героин, тогда как остальные наркотические соединения за исключением каннабиноидов, относятся лишь к группе «риска» ($МОЕ < 100$). На популяционном уровне к группе «высокого риска» относится лишь алкоголь; никотин относится к группе «риска», тогда как остальные — опиаты, кокаин, психостимуляторы амфетаминового типа, экстази и бензодиазепины — имеют $МОЕ > 100$, а каннабиноиды — $МОЕ > 10\,000$ [39].

Согласно оценке авторов цитируемого международного исследования, средний уровень потребления алкоголя для 20 городов варьировал в пределах 6,4—44,3 литров/день/1000 жителей. Для всех городов отмечено увеличение потребления алкоголя в выходные, однако степень этого увеличения была различной. Для 11 из 20 городов подтверждено, что уровень потребления алкоголя, согласно статистике ВОЗ, существенно выше величин, основанных

на аналитических данных (табл. 1). В эпидемиологическом плане все обследованные города по уровню потребления этанола относятся к группе «высокого риска» ($\text{МОЕ} < 10$), а средняя величина МОЕ для всей обследованной популяции составляет 2,5, что близко к оценке МОЕ, данной ранее для Европы на основании статистических данных [39].

Возможности выявления скрытого потребления этанола продемонстрированы при добровольном анонимном обследовании заключенных мужских тюрем в Оффенбурге и Фрайбурге (Земля Баден-Вюртемберг, ФРГ). Позитивные пробы на EtG и EtS в этих тюрьмах выявлены менее чем у 2% и 1% заключенных соответственно [65]. Исследование содержания EtS в локальном очистном сооружении университетского городка (о. Лесбос, Греция), не выявило достоверного потребления этанола студентами и персоналом в учебное время [56].

Никотин

После этанола это второй по распространенности легальный наркотик (по терминологии Управления ООН по наркотикам преступности, UNODC), ежедневно потребляемый миллиардом людей, что в семь раз превышает количество потребителей всех незаконных наркотиков [42]. В большинстве стран традиционные эпидемиологические исследования распространенности табакокурения проводятся раз в два-три года, чего явно недостаточно для оперативной оценки влияния экономических и законодательных изменений на этот показатель. Анализ динамики продаж табачных изделий также не дает полной картины из-за контрабандной или незаконно произведенной продукции, составляющей около 12% мирового рынка табака, причем для разных стран этот показатель может варьировать от 1 до 49% [66].

В качестве маркеров, пригодных для определения потребления табака, могут быть использованы как экскретируемые с мочой алкалоиды растения: никотин, норникотин, анатабин, анабазин, изоникотин, миосмин, так и продукты их метаболизма: никотин-глюкуронид, котинин, котинин-глюкуронид, норкотинин, транс-3'-гидроксикотинин, транс-3'-гидроксикотинин-глюкуронид, N-формилноркотинин и др. [14; 58]. Несмотря на то, что глюкурониды являются естественными конъюгатами табачных алкалоидов, они малоприспособлены в качестве биомаркеров, поскольку могут частично разлагаться глюкуронидазами фекальных бактерий. Для более точного определения содержания алкалоидов табака в стоках применяют предварительную ферментативную обработку отобранных проб препаратами глюкуронидазы, что приводит к гарантированной деконъюгации глюкурони-

дов и существенно повышает измеряемую концентрацию самих табачных алкалоидов [55, 58].

Теоретически котинин, метаболит никотина, также не является идеальным биомаркером потребления табака, так как его содержание в стоках может возрастать и при различных формах никотинзамещающей терапии, и при использовании электронных сигарет [26, 60]. В качестве альтернативы может быть использовано измерение экскреции других, минорных алкалоидов табака, не являющихся метаболитами никотина — анатабина и анабазина [66]. Однако их содержание в стоках на два порядка ниже уровня котинина, а потенциальный вклад никотинзамещающих методик и использования е-сигарет, как оказалось, не превышает 1% [7].

Таким образом, в настоящее время оптимальными маркерами потребления табака признаны котинин и транс-3'-гидроксикотинин (ТГК), обладающие высокой устойчивостью в сточных водах. Их суммарное содержание в стоках используют для оценки уровня ингаляционного потребления никотина. Содержание этих же соединений в моче является оптимальным показателем так называемого пассивного курения [6, 33]. Вместе с тем, в ряде исследований проводят и непосредственное измерение никотина в стоках, что позволяет оценить вклад неингаляционного поступления алкалоида, в частности, во время дождей за счет вымывания мусора и табака окурков [7, 14, 41, 55, 58, 61, 73, 76].

Важным аспектом исследований содержания ингаляционного никотина в стоках является возможность использования этого показателя в качестве популяционного, антропогенного биомаркера, индикатора численности населения. Показано, в частности, что в различных городах Испании, Италии, Китая и Бельгии потребление табака мало зависит от дней недели и настолько постоянно, что может служить параметром, пригодным для определения количества жителей, обслуживаемых соответствующими очистными сооружениями в режиме реального времени (табл. 2).

Возможность реального использования содержания в стоках ингаляционного никотина в качестве популяционного, антропогенного биомаркера, индикатора численности населения, была продемонстрирована на примере двух городов севера Италии — Милана, где реальное количество жителей, обслуживаемых очистными сооружениями, было неизвестно, и Комо, где популяционная нагрузка на очистную систему была известна заранее по результатам переписи населения. Авторы учитывали общее количество ингаляционного никотина в стоках (определенного по сумме котинина и транс-3'-гидроксикотинина), количество никотина, поступающего в организм при выкуривании

одной сигареты и число сигарет, выкуриваемых ежедневно одним курильщиком на севере Италии ($12,8 \pm 6,8$ шт.). Далее, учитывая распространенность курильщиков среди населения в возрасте более 15 лет (19,6% на севере Италии) и количество жителей в возрасте менее 15 лет, рассчитывали величины популяции, охватываемой очистными сооружениями.

Для проверки величины популяции использовали косвенные методы объективизации популяционной нагрузки стоков по показателям их биологической и химической потребности в кислороде (БПК и ХПК соответственно) [73]. Как следует из табл. 3, величина популяции, обслуживаемой очистными сооружениями Милана по данным мониторинга метаболитов никотина, составляла 831 264 жителей. Это весьма близко к величинам, полученным по результатам

оценки БПК и ХПК (1 093 165 и 973 188 жителей соответственно), несмотря на то, что эти показатели априори считаются завышенными из-за зависимости от поступления органических веществ, не связанных с жизнедеятельностью человека [58]. Результаты оценки численности населения города Комо по данным мониторинга метаболитов никотина хорошо согласуются с данными переписи населения (88 271 и 91 344 жителей соответственно), однако резко отличаются от результатов оценки популяции с помощью БПК и ХПК из-за значительного влияния промышленных стоков в этом городе.

В целом, содержание ингаляционного никотина в стоках соответствует уровню потребления табака по данным торговли, отвечает основным критериям популяционного маркера и может быть использовано

Таблица 2

Исследования потребления сигарет с помощью анализа сточных вод

Страна, область, объект, количество жителей, год, длительность наблюдения (дни)	Расчетный суммарный уровень потребления, сигарет/день	Уровень потребления по данным торговли, сигарет/день	Источник
Испания, Сантьяго-де-Компостела, $\approx 130\ 000$ чел., 2012 2013 2014 по 7 дней/год	299 000 234 000 247 000	366 600 289 900 314 600	[55]
Италия, 8 городов, север: Милан, Комо, Болонья, Турин, $\Sigma = 2\ 712\ 356$ чел., центр: Рим, 1 107 699 чел., юг: Неаполь, Бари, Палермо, $\Sigma = 1\ 069\ 426$ чел., 2012, 7-18 дней	1 695 538 2 987 243 1 207 092	1 701 190 3 114 850 1 112 987	[7]
Китай, 11 очистных сооружений города Далянь, 2 200 000 чел., 2015, 2 будних дня	1 584 000*	1 540 602*	[61]
Бельгия, Лир, 37 236 чел., 2014, 4 двухнедельных периода	136 457	141 915**	[76]

Примечание: приведены данные в расчете на жителей старше 15 лет; * — перерасчет из среднестатистического индивидуального уровня потребления сигарет — 14,6 сигареты/день на активного курильщика; ** — перерасчет из среднестатистического индивидуального уровня потребления сигарет — 15 сигарет/день на активного курильщика.

Таблица 3

Расчет численности населения в Милане и Комо с использованием содержания котинина и транс-3'-гидроксикотинина в сточных водах. Сравнение с данными по БПК и ХПК [58]

Среднее значение количества жителей за неделю измерений	Милан, постоянное население 1 100 000 по данным БПК (1)			Комо, постоянное население 91 344 (2)		
	Число жителей по метаболитам никотина*	Число жителей по данным БПК	Число жителей по данным ХПК	Число жителей по метаболитам никотина**	Число жителей по данным БПК	Число жителей по данным ХПК
	831 264 $\pm$ 68 666	1 093 165 $\pm$ 207 172	973 188 $\pm$ 226 458	88 271 $\pm$ 16 207	173 564 $\pm$ 51 133	128 347 $\pm$ 34 074

Примечание: (1) — исходная величина, измеренная до мониторинга содержания метаболитов никотина; (2) — величина по данным переписи населения; * — рассчитано по данным 18-дневного мониторинга в сентябре-октябре 2012 г.; ** — рассчитано по данным 7-дневного мониторинга в октябре 2012 г.

для оценки численности населения, обсуживающегося данной очистной системой [7; 14; 58].

Интересным исключением из этого правила являются музыкальные праздники. Показано, что во время проведения рок-, металл- и танцевальных фестивалей потребление табака увеличивается в 2 и 1,5 раза соответственно, тогда как во время фольклорных праздников оно практически не изменяется [42].

Помимо этого, содержание ингаляционного никотина в стоках в ряде случаев может быть использовано в качестве предиктора содержания в них других наркотических соединений. Так, в исследовании, проведенном в столичном округе Олбани штата Нью-Йорк, показано, что величины содержания в стоках биогенных маркеров — никотина и котинина (наряду с содержанием кофеина и параксантина), достоверно коррелируют с содержанием в них кокаина, бензоилэргонина, кокаэтилена, амфетамина, метамфетамина и морфина ($r^2 = 0,199—0,792$; $p \leq 0,029$). В то же время, между содержанием этого биогенного маркера и концентрацией в сточных водах метадона, экстази, или их метаболитов (EDDP и тенамфетамина), существенной корреляции не выявлено [76]. Достоверная положительная корреляция ($r^2 = 0,98$; $p \leq 0,05$) между нормализованными величинами поступления ингаляционного никотина и кокаина (г/день/1000 жителей) выявлена также для очистных сооружений Лиссабона [73]. Указанные корреляции содержания ингаляционного никотина в стоках, хотя и являются очевидным эпифеноменом, в отдельных случаях могут служить ориентиром для предварительной оценки ожидаемого уровня потребления некоторых нелегальных наркотиков.

Одной из задач эпидемиологии на основе анализа сточных вод является оценка влияния стоков на окружающую среду. Показано, в частности, что содержание никотина, попадающего в морскую воду из сигаретных фильтров, может составлять от 32 до 11 400 мкг/литр, т.е. один фильтр от использованной сигареты может загрязнить 1 тонну морской воды до порога, превышающего неэффективную концентрацию, нанося безусловный вред морской экосистеме [76].

Заключение

Исследования потребления этанола и никотина с применением эпидемиологии на основе анализа сточных вод позволяют получать объективную информацию о потреблении этих соединений в режиме реального времени. В настоящее время такой подход признается в качестве необходимого дополнения к традиционным эпидемиологическим методам. Репрезентативные исследования потребления этанола с помощью анализа сточных вод, охватывающие миллионы жителей десятков городов на разных континентах,

позволили выявить расхождения в величинах этого показателя с результатами, полученными традиционными эпидемиологическими методами. Выяснение причин этих различий остается актуальной задачей. Результаты исследования потребления никотина с помощью данного подхода в целом согласуются с данными эпидемиологических обследований, что позволяет использовать аналитические величины в качестве популяционных маркеров, определяющих размер обследуемой популяции.

Список литературы

1. Медведев Ю.В., Раменская Г.В., Шохин Т.А. и др. ВЭЖХ и СВЭЖХ как методы для определения лекарственных веществ в крови (обзор). *Химико-фармацевтический журнал* 2013; 47(4): 45-51.
2. Рожанец В.В., Нужный В.П. Первичный метаболизм этанола в желудочно-кишечном тракте. *Вопросы наркологии* 2007; (5): 104-119.
3. Тарасова О.И., Огурцов П.П., Мазурчик Н.В. и др. Современные лабораторные маркеры употребления алкоголя. *Клиническая фармакология и терапия* 2007; 16 (1): 2-5.
4. Allen J.P., Wurst F.M., Thon N. et al. Assessing the drinking status of liver transplant patients with alcoholic liver disease. *Liver Transpl.* 2013; 19(4): 369-376. doi: 10.1002/lt.23596
5. Andres-Costa M.J., Escrivá U., Andreu V., et al. Estimation of alcohol consumption during «Fallas» festivity in the wastewater of Valencia city (Spain) using ethyl sulfate as a biomarker. *Sci Total Environ* 2016; 541: 616-622.
6. Avila-Tang E., Al-Delaimy W.K., Ashley D.L. et al. Assessing secondhand smoke using biological markers. *Tob Control* 2013; 22(3): 164-171.
7. Avila-Tang E., Elf J.L., Cummings K.M. et al. Assessing secondhand smoke exposure with reported measures. *Tob Control* 2013; 22(3): 156-163.
8. Bade R., Rousis N.I., Bijlsma L. et al. Screening of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and surface waters of Spain and Italy by high resolution mass spectrometry using UHPLC-QTOF MS and LC-LTQ-Orbitrap MS. *Anal Bioanal Chem* 2015; 407(30): 8979-8988.
9. Been F., Rossi L., Ort C. et al. Population normalization with ammonium in wastewater-based epidemiology: application to illicit drug monitoring. *Environ Sci Technol.* 2014; 48(14): 8162-8169.
10. Berset J.D., Brenneisen R., Mathieu C. Analysis of licit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Chemosphere* 2010; 81(7): 859-866.
11. Bohannon J. Public health. Hard data on hard drugs, grabbed from the environment. *Science* 2007; 316(5821): 42-44.
12. Boogaerts T., Covaci A., Kinyua J. et al. Spatial and temporal trends in alcohol consumption in Belgian cities: A wastewater-based approach. *Drug Alcohol Depend.* 2016; 160: 170-176. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2016.01.002
13. Borucki K., Schreiner R., Dierkes J. et al. Detection of recent ethanol intake with new markers: comparison of fatty acid ethyl esters in serum and of ethyl glucuronide and the ratio of 5-hydroxytryptophol to 5-hydroxyindole acetic acid in urine. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2005; 29(5): 781-787.
14. Buerge I.J., Kahle M., Buser H.R. et al. Nicotine derivatives in wastewater and surface waters: application as chemical markers for domestic wastewater. *Environ Sci Technol.* 2008; 42(17): 6354-60.

15. Cabarcos P., Alvarez I., Tabernero M.J. et al. Determination of direct alcohol markers: a review. *Anal Bioanal Chem.* 2015; 407(17): 4907-4925.
16. Castiglioni S., Senta I., Borsotti A. et al. A novel approach for monitoring tobacco use in local communities by wastewater analysis. *Tob Control* 2015; 24(1): 38-42.
17. Castiglioni S., Bijlsma L., Covaci A. et al. Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Environ Sci Technol* 2013; 47(3): 1452-1460.
18. Castiglioni S., Thomas K.V., Kasprzyk-Hordern B. et al. Testing wastewater to detect illicit drugs: state of the art, potential and research needs. *Sci Total Environ* 2014; 487: 613-620.
19. Chen C., Kostakis C., Gerber J.P. et al. Towards finding a population biomarker for wastewater epidemiology studies. *Sci Total Environ* 2014; 487: 621-628.
20. Damien D.A., Thomas N., Helene P. et al. First evaluation of illicit and licit drug consumption based on wastewater analysis in Fort de France urban area (Martinique, Caribbean), a transit area for drug smuggling. *Sci Total Environ* 2014; 490: 970-978.
21. Daughton C.G. Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. *Rev Environ Contam Toxicol* 2011; 210: 59-110.
22. Daughton C.G. Real-time estimation of small-area populations with human biomarkers in sewage. *Sci Total Environ.* 2012; 414: 6-21.
23. Dresen S., Weinmann W., Wurst F.M. Forensic confirmatory analysis of ethyl sulfate — a new marker for alcohol consumption — by liquid-chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* 2004; 15(11): 1644-1648.
24. EMCDDA, Perspectives on drugs: Wastewater analysis and drugs — a European multi-city study 2015. Available at: <http://www.emcdda.europa.eu/topics/pods/waste-water-analysis>.
25. Fatta-Kassinos D., Meric S., Nikolaou A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Anal Bioanal Chem* 2011; 399(1): 251-275.
26. Gartner C. Flushing out smoking: measuring population tobacco use via wastewater analysis. *Tob. Control* 2015; 24(1): 1-2. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2014-051844
27. Gatidou G., Kinyua J., van Nuijs A.L. et al. Drugs of abuse and alcohol consumption among different groups of population on the Greek Island of Lesbos through sewage-based epidemiology. *Sci Total Environ* 2016; 563-564: 633-640.
28. Gheorghe A., van Nuijs A., Pecceu B. et al. Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2008; 391(4): 309-319.
29. Hegstad S., Helland A., Hagemann C. et al. EtG/EtS in Urine from sexual assault victims determined by UPLC-MS-MS. *J Anal Toxicol* 2013; 37(4): 227-232.
30. Helander A., Beck O. Ethyl sulfate: a metabolite of ethanol in humans and a potential biomarker of acute alcohol intake. *J Anal Toxicol* 2005; 29(5): 270-274.
31. Helander A., Bottcher M., Fehr C. et al. Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol.* 2009; 44(1): 55-61.
32. Hoiseith G., Bernard J.P., Stephanson N. et al. Comparison between the urinary alcohol markers EtG, EtS, and GTOL/5-HIAA in a controlled drinking experiment. *Alcohol Alcohol.* 2008; 43(2): 187-191.
33. Hukkanen J., Jacob P., Benowitz N.L. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev* 2005; 57(1): 79-115.
34. Jatlow P.I., Agro A., Wu R. et al. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate assays in clinical trials, interpretation, and limitations: results of a dose ranging alcohol challenge study and 2 clinical trials. *Alcohol Clin Exp Res.* 2014; 38(7): 2056-2065.
35. Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M., Guwy A.J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res.* 2008; 42(13): 3498-3518.
36. Kinyua J., Covaci A., Maho W. et al. Sewage-based epidemiology in monitoring the use of new psychoactive substances: Validation and application of an analytical method using LC-MS/MS. *Drug Test Anal.* 2015; 7(9): 812-818.
37. Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T. et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol.* 2002; 36(6): 1202-1211.
38. Kummer N., Wille S.M., Poll A. et al. Quantification of EtG in hair, EtG and EtS in urine and PETH species in capillary dried blood spots to assess the alcohol consumption in driver's licence regranting cases. *Drug Alcohol Depend.* 2016; 165: 191-197.
39. Lachenmeier D.W., Rehm J. Comparative risk assessment of alcohol, tobacco, cannabis and other illicit drugs using the margin of exposure approach. *Sci Rep* 2015; 5: 8126. doi: 10.1038/srep08126
40. Lai F.Y., Anuj S., Bruno R. et al. Systematic and day-to-day effects of chemical-derived population estimates on wastewater-based drug epidemiology. *Environ Sci Technol.* 2015; 49(2): 999-1008.
41. Lopes A., Silva N., Bronze M.R. et al. Analysis of cocaine and nicotine metabolites in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Cross abuse index patterns on a major community. *Sci Total Environ* 2014; 487: 673-80.
42. Mackusak T., Grabic R., Gal M. et al. Evaluation of different smoking habits during music festivals through wastewater analysis. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015; 40(3): 1015-20.
43. Mastroianni N., Lopez de Alda M., Barcelo D. Analysis of ethyl sulfate in raw wastewater for estimation of alcohol consumption and its correlation with drugs of abuse in the city of Barcelona. *J Chromatogr A* 2014; 1360: 93-99.
44. McCall A.K., Bade R., Kinyua J. et al. Critical review on the stability of illicit drugs in sewers and wastewater samples. *Water Res.* 2016; 88: 933-947.
45. Myers D.N., Wilde F.D. eds. November 2003, Biological indicators (3d ed.): U.S. Geological Survey Techniques of Water-Resources Investigations, book 9, chap. A7. Available at: <https://water.usgs.gov/owq/FieldManual/Chapter7/NFMChap7.pdf>
46. Nanau R.M., Neuman M.G. Biomolecules and Biomarkers Used in Diagnosis of Alcohol Drinking and in Monitoring Therapeutic Interventions. *Biomolecules* 2015; 5(3): 1339-1385.
47. Ort C., Lawrence M.G., Reungoat J. et al. Sampling for PPCPs in wastewater systems: comparison of different sampling modes and optimization strategies. *Environ Sci Technol.* 2010; 44(16): 6289-6296.
48. Ort C., Lawrence M.G., Rieckermann J. et al. Sampling for pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and illicit drugs in wastewater systems: are your conclusions valid? A critical review. *Environ Sci Technol.* 2010; 44(16): 6024-6035.
49. Ort C., van Nuijs A.L., Berset J.D. et al. Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction* 2014; 109(8): 1338-1352.
50. Reid M.J., Langford K.H., Morland J. et al. Analysis and interpretation of specific ethanol metabolites, ethyl sulfate, and ethyl glucuronide in sewage effluent for the quantitative measurement of regional alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011; 35(9): 1593-1599.
51. Reid M.J., Langford K.H., Morland J. et al. Quantitative assessment of time dependent drug-use trends by the analysis of drugs and related metabolites in raw sewage. *Drug Alcohol Depend.* 2011; 119(3): 179-186.
52. Reisfield G.M., Goldberger B.A., Pesce A.J. et al. Ethyl glucuronide, ethyl sulfate, and ethanol in urine after intensive exposure to high ethanol content mouthwash. *J Anal Toxicol.* 2011; 35(5): 264-268.

53. Rodriguez-Alvarez T., Racamonde I., Gonzalez-Marino I. et al. Alcohol and cocaine co-consumption in two European cities assessed by wastewater analysis. *Sci Total Environ.* 2015; 536: 91-98.
54. Rodriguez-Alvarez T., Rodil R., Cela R. et al. Ion-pair reversed-phase liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight and triple-quadrupole-mass spectrometry determination of ethyl sulfate in wastewater for alcohol consumption tracing. *J Chromatogr A* 2014; 1328: 35-42.
55. Rodriguez-Alvarez T., Rodil R., Rico M. et al. Assessment of local tobacco consumption by liquid chromatography-tandem mass spectrometry sewage analysis of nicotine and its metabolites, cotinine and trans-3'-hydroxycotinine, after enzymatic deconjugation. *Anal Chem.* 2014; 86(2014): 10274-10281.
56. Ryu Y., Barcelo D., Barron L.P. et al. Comparative measurement and quantitative risk assessment of alcohol consumption through wastewater-based epidemiology: An international study in 20 cities. *Sci Total Environ* 2016; 565: 977-983.
57. SCORE-ES1307 COST Action. — Sewage Analysis CORE group Europe. May 9th, 2016. Available at: <http://score-cost.eu>
58. Senta I., Gracia-Lor E., Borsotti A. et al. Wastewater analysis to monitor use of caffeine and nicotine and evaluation of their metabolites as biomarkers for population size assessment. *Water Res.* 2015; 74: 23-33.
59. Senta I., Krizman I., Ahel M. et al. Assessment of stability of drug biomarkers in municipal wastewater as a factor influencing the estimation of drug consumption using sewage epidemiology. *Sci Total Environ.* 2014; 487: 659-665.
60. St Helen G., Havel C., Dempsey D. et al. Nicotine delivery, retention, and pharmacokinetics from various electronic cigarettes. *Addiction* 2016; 111(3): 535-544.
61. Subedi B., Kannan K. Mass loading and removal of select illicit drugs in two wastewater treatment plants in New York State and estimation of illicit drug usage in communities through wastewater analysis. *Environ Sci Technol.* 2014; 48(12): 6661-6670.
62. Thai P.K., Jiang G., Gernjak W. et al. Effects of sewer conditions on the degradation of selected illicit drug residues in wastewater. *Water Res.* 2014; 48: 538-547.
63. Thierauf A., Gnann H., Wohlfarth A. et al. Urine tested positive for ethyl glucuronide and ethyl sulphate after the consumption of «non-alcoholic» beer. *Forensic Sci Int.* 2010; 202(1-3): 82-85.
64. Thierauf A., Halter C.C., Rana S. et al. Urine tested positive for ethyl glucuronide after trace amounts of ethanol. *Addiction* 2009; 104(12): 2007-2012.
65. Thierauf-Emberger A., Franz A., Auwarter V. et al. Detection of the ethanol consumption markers ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine samples from inmates of two German prisons. *Int J Legal Med* 2016; 130(2): 387-391.
66. Tschärke B.J., White J.M., Gerber J.P. et al. Estimates of tobacco use by wastewater analysis of anabasine and anatabine. *Drug Test Anal.* 2016; 8(7): 702-707.
67. UNODC, World Drug Report 2012. — United Nations publication, Sales No. E.12.XI.1. [Electronic resource]. Available at: https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf
68. Van Nuijs A.L., Castiglioni S., Tarcomnicu I. et al. Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: a critical review. *Sci Total Environ.* 2011; 409(19): 3564-3577.
69. Van Nuijs A.L., Mougél J.F., Tarcomnicu I. et al. Sewage epidemiology—a real-time approach to estimate the consumption of illicit drugs in Brussels, Belgium. *Environ Int.* 2011; 37(3): 612-21.
70. Van Wel J.H., Gracia-Lor E., van Nuijs A.L. et al. Investigation of agreement between wastewater-based epidemiology and survey data on alcohol and nicotine use in a community. *Drug Alcohol Depend.* 2016; (1): 170-175.
71. Van Wel J.H., Kinyua J., van Nuijs A.L. et al. A comparison between wastewater-based drug data and an illicit drug use survey in a selected community. *Int J Drug Policy* 2016; 34: 20-26.
72. Walsham N.E., Sherwood R.A. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate. *Adv Clin Chem.* 2014; 67: 47-71.
73. Wang D.G., Dong Q.Q., Du J. et al. Using Monte Carlo simulation to assess variability and uncertainty of tobacco consumption in a city by sewage epidemiology. *BMJ Open* 2016; 6(2): e010583. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010583
74. Wastewater-based epidemiology as a novel tool to evaluate illicit drugs, alcohol and tobacco use in a population. ADDICTIONS 2015 conference. Lisbon, 23-25 September 2015. Available at: <http://score-cost.eu/2015/11/11/addictions-2015/>
75. Winkler M., Skopp G., Alt A. et al. Comparison of direct and indirect alcohol markers with PEth in blood and urine in alcohol dependent inpatients during detoxication. *Int J Legal Med.* 2013; 127(4): 761-768.
76. Wright S.L., Rowe D., Reid M.J. et al. Bioaccumulation and biological effects of cigarette litter in marine worms. *Sci Rep.* 2015; 5: 14119. doi: 10.1038/srep14119.
77. Wurst F.M., Dresen S., Allen J.P. et al. Ethyl sulphate: a direct ethanol metabolite reflecting recent alcohol consumption. *Addiction* 2006; 101(2): 204-211.
78. Wurst F.M., Vogel R., Jachau K. et al. Ethyl glucuronide discloses recent covert alcohol use not detected by standard testing in forensic psychiatric inpatients. *Alcohol Clin Exp Res.* 2003; 27(3): 471-476.
79. Yang Q., Liu Z., Yang J. Simultaneous Determination of Chemical Oxygen Demand (COD) and Biological Oxygen Demand (BOD5) in Wastewater by Near-Infrared Spectrometry. *J. Water Resource and Protection* 2009; 4: 286-289.
80. Zuccato E., Chiabrando C., Castiglioni S. et al. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ Health* 2005; 4: 14.
81. Zuccato E., Chiabrando C., Castiglioni S. et al. Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environ Health Perspect* 2008; 116 (8): 1027-1032.

References

1. Medvedev Yu.V., Ramenskaya G.V., Shokhin T.A. et al. High performance liquid chromatography as a method for determining drugs in the blood (review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal [Chemical-Pharmaceutical Journal]* 2013; 47(4): 45-51. (In Russ.).
2. Rozhanets V.V., Nuzhnyy V.P. Pervichnyy metabolizm etanola v zheludочно-kishechnom trakte [Primary metabolism of ethanol in the gastrointestinal tract]. *Voprosy narkologii [Questions of narcology]* 2007; (5): 104-119. (In Russ.).
3. Tarasova O.I., Ogurtsov P.P., Mazurchik N.V. et al. Sovremennye laboratornye markery upotrebleniya alkogolya [Modern laboratory markers of alcohol use]. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya [Clinical Pharmacology and Therapy]* 2007; (16): 2-5. (In Russ.).
4. Allen J.P., Wurst F.M., Thon N. et al. Assessing the drinking status of liver transplant patients with alcoholic liver disease. *Liver Transpl.* 2013; 19(4): 369-376. doi: 10.1002/lt.23596
5. Andres-Costa M.J., Escrivá U., Andreu V., et al. Estimation of alcohol consumption during «Fallas» festivity in the wastewater of Valencia city (Spain) using ethyl sulfate as a biomarker. *Sci Total Environ* 2016; 541: 616-622.
6. Avila-Tang E., Al-Delaimy W.K., Ashley D.L. et al. Assessing secondhand smoke using biological markers. *Tob Control* 2013; 22(3): 164-171.
7. Avila-Tang E., Elf J.L., Cummings K.M. et al. Assessing secondhand smoke exposure with reported measures. *Tob Control* 2013; 22(3): 156-163.

8. Bade R., Rousis N.I., Bijlsma L. et al. Screening of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and surface waters of Spain and Italy by high resolution mass spectrometry using UHPLC-QTOF MS and LC-LTQ-Orbitrap MS. *Anal Bioanal Chem* 2015; 407(30): 8979-8988.
9. Been F., Rossi L., Ort C. et al. Population normalization with ammonium in wastewater-based epidemiology: application to illicit drug monitoring. *Environ Sci Technol*. 2014; 48(14): 8162-8169.
10. Berset J.D., Brenneisen R., Mathieu C. Analysis of licit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Chemosphere* 2010; 81(7): 859-866.
11. Bohannon J. Public health. Hard data on hard drugs, grabbed from the environment. *Science* 2007; 316(5821): 42-44.
12. Boogaerts T., Covaci A., Kinyua J. et al. Spatial and temporal trends in alcohol consumption in Belgian cities: A wastewater-based approach. *Drug Alcohol Depend*. 2016; 160: 170-176. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2016.01.002
13. Borucki K., Schreiner R., Dierkes J. et al. Detection of recent ethanol intake with new markers: comparison of fatty acid ethyl esters in serum and of ethyl glucuronide and the ratio of 5-hydroxytryptophol to 5-hydroxyindole acetic acid in urine. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2005; 29(5): 781-787.
14. Buerge I.J., Kahle M., Buser H.R. et al. Nicotine derivatives in wastewater and surface waters: application as chemical markers for domestic wastewater. *Environ Sci Technol*. 2008; 42(17): 6354-60.
15. Cabarcos P., Alvarez I., Tabernero M.J. et al. Determination of direct alcohol markers: a review. *Anal Bioanal Chem*. 2015; 407(17): 4907-4925.
16. Castiglioni S., Senta I., Borsotti A. et al. A novel approach for monitoring tobacco use in local communities by wastewater analysis. *Tob Control* 2015; 24(1): 38-42.
17. Castiglioni S., Bijlsma L., Covaci A. et al. Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Environ Sci Technol* 2013; 47(3): 1452-1460.
18. Castiglioni S., Thomas K.V., Kasprzyk-Hordern B. et al. Testing wastewater to detect illicit drugs: state of the art, potential and research needs. *Sci Total Environ* 2014; 487: 613-620.
19. Chen C., Kostakis C., Gerber J.P. et al. Towards finding a population biomarker for wastewater epidemiology studies. *Sci Total Environ* 2014; 487: 621-628.
20. Damien D.A., Thomas N., Helene P. et al. First evaluation of illicit and licit drug consumption based on wastewater analysis in Fort de France urban area (Martinique, Caribbean), a transit area for drug smuggling. *Sci Total Environ* 2014; 490: 970-978.
21. Daughton C.G. Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. *Rev Environ Contam Toxicol* 2011; 210: 59-110.
22. Daughton C.G. Real-time estimation of small-area populations with human biomarkers in sewage. *Sci Total Environ*. 2012; 414: 6-21.
23. Dresen S., Weinmann W., Wurst F.M. Forensic confirmatory analysis of ethyl sulfate — a new marker for alcohol consumption — by liquid-chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* 2004; 15(11): 1644-1648.
24. EMCDDA. Perspectives on drugs: Wastewater analysis and drugs — a European multi-city study 2015. Available at: <http://www.emcdda.europa.eu/topics/pods/waste-water-analysis>.
25. Fatta-Kassinos D., Meric S., Nikolaou A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Anal Bioanal Chem* 2011; 399(1): 251-275.
26. Gartner C. Flushing out smoking: measuring population tobacco use via wastewater analysis. *Tob. Control* 2015; 24(1): 1-2. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2014-051844
27. Gatidou G., Kinyua J., van Nuijs A.L. et al. Drugs of abuse and alcohol consumption among different groups of population on the Greek Island of Lesbos through sewage-based epidemiology. *Sci Total Environ* 2016; 563-564: 633-640.
28. Gheorghe A., van Nuijs A., Pecceu B. et al. Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2008; 391(4): 309-1319.
29. Hegstad S., Helland A., Hagemann C. et al. EtG/EtS in Urine from sexual assault victims determined by UPLC-MS-MS. *J Anal Toxicol* 2013; 37(4): 227-232.
30. Helander A., Beck O. Ethyl sulfate: a metabolite of ethanol in humans and a potential biomarker of acute alcohol intake. *J Anal Toxicol* 2005; 29(5): 270-274.
31. Helander A., Bottcher M., Fehr C. et al. Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol*. 2009; 44(1): 55-61.
32. Hoiseith G., Bernard J.P., Stephanson N. et al. Comparison between the urinary alcohol markers EtG, EtS, and GTOL/5-HIAA in a controlled drinking experiment. *Alcohol Alcohol*. 2008; 43(2): 187-191.
33. Hukkanen J., Jacob P., Benowitz N.L. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev* 2005; 57(1): 79-115.
34. Jatlow P.I., Agro A., Wu R. et al. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate assays in clinical trials, interpretation, and limitations: results of a dose ranging alcohol challenge study and 2 clinical trials. *Alcohol Clin Exp Res*. 2014; 38(7): 2056-2065.
35. Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R.M., Guwy A.J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res*. 2008; 42(13): 3498-3518.
36. Kinyua J., Covaci A., Maho W. et al. Sewage-based epidemiology in monitoring the use of new psychoactive substances: Validation and application of an analytical method using LC-MS/MS. *Drug Test Anal*. 2015; 7(9): 812-818.
37. Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T. et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol*. 2002; 36(6): 1202-1211.
38. Kummer N., Wille S.M., Poll A. et al. Quantification of EtG in hair, EtG and EtS in urine and PEth species in capillary dried blood spots to assess the alcohol consumption in driver's licence regranting cases. *Drug Alcohol Depend*. 2016; 165: 191-197.
39. Lachenmeier D.W., Rehm J. Comparative risk assessment of alcohol, tobacco, cannabis and other illicit drugs using the margin of exposure approach. *Sci Rep* 2015; 5: 8126. doi: 10.1038/srep08126
40. Lai F.Y., Anuj S., Bruno R. et al. Systematic and day-to-day effects of chemical-derived population estimates on wastewater-based drug epidemiology. *Environ Sci Technol*. 2015; 49(2): 999-1008.
41. Lopes A., Silva N., Bronze M.R. et al. Analysis of cocaine and nicotine metabolites in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Cross abuse index patterns on a major community. *Sci Total Environ* 2014; 487: 673-80.
42. Mackusak T., Grabic R., Gal M. et al. Evaluation of different smoking habits during music festivals through wastewater analysis. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015; 40(3): 1015-20.
43. Mastroianni N., Lopez de Alda M., Barcelo D. Analysis of ethyl sulfate in raw wastewater for estimation of alcohol consumption and its correlation with drugs of abuse in the city of Barcelona. *J Chromatogr A* 2014; 1360: 93-99.
44. McCall A.K., Bade R., Kinyua J. et al. Critical review on the stability of illicit drugs in sewers and wastewater samples. *Water Res*. 2016; 88: 933-947.
45. Myers D.N., Wilde F.D. eds. November 2003, Biological indicators (3d ed.): U.S. Geological Survey Techniques of Water-Resources Investigations, book 9, chap. A7. Available at: <https://water.usgs.gov/owq/FieldManual/Chapter7/NFMChap7.pdf>

46. Nanau R.M., Neuman M.G. Biomolecules and Biomarkers Used in Diagnosis of Alcohol Drinking and in Monitoring Therapeutic Interventions. *Biomolecules* 2015; 5(3): 1339-1385.
47. Ort C., Lawrence M.G., Reungoat J. et al. Sampling for PPCPs in wastewater systems: comparison of different sampling modes and optimization strategies. *Environ Sci Technol.* 2010; 44(16): 6289-6296.
48. Ort C., Lawrence M.G., Rieckermann J. et al. Sampling for pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and illicit drugs in wastewater systems: are your conclusions valid? A critical review. *Environ Sci Technol.* 2010; 44(16): 6024-6035.
49. Ort C., van Nuijs A.L., Berset J.D. et al. Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction* 2014; 109(8): 1338-1352.
50. Reid M.J., Langford K.H., Morland J. et al. Analysis and interpretation of specific ethanol metabolites, ethyl sulfate, and ethyl glucuronide in sewage effluent for the quantitative measurement of regional alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011; 35(9): 1593-1599.
51. Reid M.J., Langford K.H., Morland J. et al. Quantitative assessment of time dependent drug-use trends by the analysis of drugs and related metabolites in raw sewage. *Drug Alcohol Depend.* 2011; 119(3): 179-186.
52. Reisfield G.M., Goldberger B.A., Pesce A.J. et al. Ethyl glucuronide, ethyl sulfate, and ethanol in urine after intensive exposure to high ethanol content mouthwash. *J Anal Toxicol.* 2011; 35(5): 264-268.
53. Rodriguez-Alvarez T., Racamonde I., Gonzalez-Marino I. et al. Alcohol and cocaine co-consumption in two European cities assessed by wastewater analysis. *Sci Total Environ.* 2015; 536: 91-98.
54. Rodriguez-Alvarez T., Rodil R., Cela R. et al. Ion-pair reversed-phase liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight and triple-quadrupole-mass spectrometry determination of ethyl sulfate in wastewater for alcohol consumption tracing. *J Chromatogr A* 2014; 1328: 35-42.
55. Rodriguez-Alvarez T., Rodil R., Rico M. et al. Assessment of local tobacco consumption by liquid chromatography-tandem mass spectrometry sewage analysis of nicotine and its metabolites, cotinine and trans-3'-hydroxycotinine, after enzymatic deconjugation. *Anal Chem.* 2014; 86(20): 10274-10281.
56. Ryu Y., Barcelo D., Barron L.P. et al. Comparative measurement and quantitative risk assessment of alcohol consumption through wastewater-based epidemiology: An international study in 20 cities. *Sci Total Environ* 2016; 565: 977-983.
57. SCORE-ES1307 COST Action. — Sewage Analysis CORE group Europe. May 9th, 2016. Available at: <http://score-cost.eu>
58. Senta I., Gracia-Lor E., Borsotti A. et al. Wastewater analysis to monitor use of caffeine and nicotine and evaluation of their metabolites as biomarkers for population size assessment. *Water Res.* 2015; 74: 23-33.
59. Senta I., Krizman I., Ahel M. et al. Assessment of stability of drug biomarkers in municipal wastewater as a factor influencing the estimation of drug consumption using sewage epidemiology. *Sci Total Environ.* 2014; 487: 659-665.
60. St Helen G., Havel C., Dempsey D. et al. Nicotine delivery, retention, and pharmacokinetics from various electronic cigarettes. *Addiction* 2016; 111(3): 535-544.
61. Subedi B., Kannan K. Mass loading and removal of select illicit drugs in two wastewater treatment plants in New York State and estimation of illicit drug usage in communities through wastewater analysis. *Environ Sci Technol.* 2014; 48(12): 6661-6670.
62. Thai P.K., Jiang G., Gernjak W. et al. Effects of sewer conditions on the degradation of selected illicit drug residues in wastewater. *Water Res.* 2014; 48: 538-547.
63. Thierauf A., Gnann H., Wohlfarth A. et al. Urine tested positive for ethyl glucuronide and ethyl sulphate after the consumption of «non-alcoholic» beer. *Forensic Sci Int.* 2010; 202(1-3): 82-85.
64. Thierauf A., Halter C.C., Rana S. et al. Urine tested positive for ethyl glucuronide after trace amounts of ethanol. *Addiction* 2009; 104(12): 2007-2012.
65. Thierauf-Emberger A., Franz A., Auwarter V. et al. Detection of the ethanol consumption markers ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine samples from inmates of two German prisons. *Int J Legal Med* 2016; 130(2): 387-391.
66. Tschärke B.J., White J.M., Gerber J.P. et al. Estimates of tobacco use by wastewater analysis of anabasine and anatabine. *Drug Test Anal.* 2016; 8(7): 702-707.
67. UNODC, World Drug Report 2012. — United Nations publication, Sales No. E.12.XI.1. [Electronic resource]. Available at: https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf
68. Van Nuijs A.L., Castiglioni S., Tarcomnicu I. et al. Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: a critical review. *Sci Total Environ.* 2011; 409(19): 3564-3577.
69. Van Nuijs A.L., Mougel J.F., Tarcomnicu I. et al. Sewage epidemiology—a real-time approach to estimate the consumption of illicit drugs in Brussels, Belgium. *Environ Int.* 2011; 37(3): 612-21.
70. Van Wel J.H., Gracia-Lor E., van Nuijs A.L. et al. Investigation of agreement between wastewater-based epidemiology and survey data on alcohol and nicotine use in a community. *Drug Alcohol Depend.* 2016; (1): 170-175.
71. Van Wel J.H., Kinyua J., van Nuijs A.L. et al. A comparison between wastewater-based drug data and an illicit drug use survey in a selected community. *Int J Drug Policy* 2016; 34: 20-26.
72. Walsham N.E., Sherwood R.A. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate. *Adv Clin Chem.* 2014; 67: 47-71.
73. Wang D.G., Dong Q.Q., Du J. et al. Using Monte Carlo simulation to assess variability and uncertainty of tobacco consumption in a city by sewage epidemiology. *BMJ Open* 2016; 6(2): e010583. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010583
74. Wastewater-based epidemiology as a novel tool to evaluate illicit drugs, alcohol and tobacco use in a population. ADDICTIONS 2015 conference. Lisbon, 23-25 September 2015. Available at: <http://score-cost.eu/2015/11/11/addictions-2015/>
75. Winkler M., Skopp G., Alt A. et al. Comparison of direct and indirect alcohol markers with PEth in blood and urine in alcohol dependent inpatients during detoxification. *Int J Legal Med.* 2013; 127(4): 761-768.
76. Wright S.L., Rowe D., Reid M.J. et al. Bioaccumulation and biological effects of cigarette litter in marine worms. *Sci Rep.* 2015; 5: 14119. doi: 10.1038/srep14119.
77. Wurst F.M., Dresen S., Allen J.P. et al. Ethyl sulphate: a direct ethanol metabolite reflecting recent alcohol consumption. *Addiction* 2006; 101(2): 204-211.
78. Wurst F.M., Vogel R., Jachau K. et al. Ethyl glucuronide discloses recent covert alcohol use not detected by standard testing in forensic psychiatric inpatients. *Alcohol Clin Exp Res.* 2003; 27(3): 471-476.
79. Yang Q., Liu Z., Yang J. Simultaneous Determination of Chemical Oxygen Demand (COD) and Biological Oxygen Demand (BOD5) in Wastewater by Near-Infrared Spectrometry. *J. Water Resource and Protection* 2009; 4: 286-289.
80. Zuccato E., Chiabrando C., Castiglioni S. et al. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ Health* 2005; 4: 14.
81. Zuccato E., Chiabrando C., Castiglioni S. et al. Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environ Health Perspect* 2008; 116 (8): 1027-1032.

SEWAGE-BASED EPIDEMIOLOGY: I. ASSESSMENT OF CONSUMPTION OF ETHANOL AND NICOTINE**Rozhanets V.V.¹, Jang M.²**

1 — National Medical Research Center of Psychiatry and Narcology named after V.P. Serbsky
Moscow, Russia

2 — Lomonosov Moscow State University
Moscow, Russia

For correspondence: *Rozhanets Vladimir*, e-mail: vladimirroz@mail.ru

Conflict of interest. The author declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received: 31.05.2017.

Review summarizes data for a new direction in epidemiology — «Wastewater-based epidemiology», WBE or «Sewage-based epidemiology», SBE. This approach is based on the analysis of content in the wastewater of specific markers of alcohol, nicotine and illegal drugs, excreted with urine. It highlights the key methodological techniques, including sample preparation, analytical methods and calculation method. Are shown comprehensive published data on the consumption of ethanol and nicotine research in tens of cities in Europe, the USA, Canada and Australia. Presents results comparing the analytical data obtained by high performance liquid chromatography and mass spectrometry with results traditional epidemiological studies. Presents the results of assessment the epidemiological risk of the use of ethanol by means of determining the «margin of exposure» (MOE). It sets out information about the possibility of using nicotine metabolites as markers to determine the population size of the population covered by wastewater treatment plants, as well as predictors of illicit drug use.

Keywords: epidemiology, wastewater, sewage, HPLC, LC-MS, ethanol, alcohol, nicotine, tobacco, margin of exposure.