

The Amount of Alcohol Consumption and Its Quantitative Risk Assessment through Wastewater-Based Epidemiology: a Case Study in Kermanshah City

Anvar Asadi^{1,2}, Yahya Salimi³, Negin Farhadian⁴

1. Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Kurdistan University of Medical Sciences Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5714-0878.
2. Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Health, Kermanshah University of Medical Sciences Kermanshah, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5714-0878.
3. Associate Professor, Department of Epidemiology, School of Health, Kermanshah University of Medical Sciences Kermanshah, Iran. ORCID ID: 0000-0003-2124-2589.
4. Assistant Professor, Research Centre for Environmental Determinants of Health (RCEDH), Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. (Corresponding author), Tel: 08334276489. Email: neginfarhadian@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0001-5748-5406

ABSTRACT

Background and Aim: Monitoring alcohol consumption in population is very important for planning public health and evaluation of the efficiency of intervention strategies. The aim of this study was to use wastewater-based epidemiology (WBE) to estimate alcohol consumption in a Kermanshah City and calculate risk assessment using the margin of exposure (MOE) approach.

Materials and Methods: Raw composite wastewater samples (5 hours) were collected from the entrance of Kermanshah wastewater plant over a 30 days' period. Ethyl sulfate metabolite was used to measure the alcohol content of the samples, which is excreted in the urine after consuming alcohol by humans and enters into the wastewater collection network. After centrifugation and filtration, the samples were directly injected into the liquid chromatography with tandem mass spectrometry LC-MS/MS for analysis. After calculation of alcohol consumption rate with back-calculation method, the results were used for risk assessment by MOE.

Results: In general, the average amount of alcohol consumption during sampling in the society was 0.332 ml per person of equal age and over 15 years of age (adult) per day, which was equal to 0.121 liters of pure alcohol per person per year. We found no significant difference in the amount of alcohol consumption between the weekend and working days of the week, and also between sampling days in Ramadan and ordinary days. In 90% of the samples taken, the risk associated with alcohol consumption was higher than MOE=100 and only in 3 samples the MOE value was in the "risk" category.

Conclusion: The results of this study showed that wastewater-based epidemiology can provide appropriate timely and transitional information on alcohol use and its associated exposure risks in the community. Also, the amount of alcohol consumption in the population in our study was much lower than those in the European and American countries.

Keywords: Wastewater, Wastewater epidemiology, Alcohol, Ethyl sulfate, Margin of exposure, Kermanshah.

Received: Oct 30, 2022

Accepted: May 17, 2023

How to cite the article: Anvar Asadi, Yahya Salimi, Negin Farhadian. The Amount of Alcohol Consumption and Its Quantitative Risk Assessment through Wastewater-Based Epidemiology: a Case Study in Kermanshah City. *SJKU* 2024;28(6):161-173.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

میزان مصرف الکل و ارزیابی خطر کمی آن از طریق اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب: مطالعه موردی شهر کرمانشاه

انور اسدی^۱، یحیی سلیمی^۲، نگین فرهادیان^۴

- ۱- دانشیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۵۷۱۴-۰۸۷۸
- ۲- دانشیار، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۵۷۱۴-۰۸۷۸
- ۳- دانشیار، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۲۱۲۴-۲۵۸۹
- ۴- استادیار، مرکز تحقیقات عوامل محیطی موثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران. (مؤلف مسئول)، تلفن: ۰۸۳۳۴۲۷۶۴۸۹، پست الکترونیک: neginfarhadian@yahoo.com کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۵۷۴۸-۵۴۰۶

چکیده

زمینه و هدف: پایش مصرف الکل در جامعه برای برنامه ریزی بهداشت عمومی و ارزیابی کارایی راهبردهای مداخلاتی اهمیت بالایی دارد. هدف از این مطالعه، استفاده از روش اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب برای تخمین مصرف الکل در جمعیت تحت پوشش تصفیه خانه فاضلاب شهر کرمانشاه و همچنین ارزیابی میزان ریسک بهداشتی آن با روش حاشیه مواجهه (Margin of Exposure, MOE) می‌باشد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های مرکب روزانه (۵ ساعتی) از ورودی تصفیه خانه فاضلاب کرمانشاه در سال ۱۴۰۰ برای یک دوره زمانی ۳۰ روزه جمع آوری شدند. برای سنجش میزان الکل نمونه‌ها از متابولیت اتیل سولفات استفاده شد که بعد از مصرف الکل توسط انسان در ادرار دفع می‌شود و وارد شبکه جمع آوری فاضلاب می‌گردد. نمونه‌ها بعد از سانتریفیوژ و فیلتراسیون مستقیماً به دستگاه liquid chromatography with tandem mass spectrometry LC-MS/MS برای آنالیز تزریق گردید. بعد از محاسبه سرانه مصرف الکل با روش محاسبه معکوس از نتایج آن برای ارزیابی ریسک بهداشتی با روش MOE استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین سرانه میزان مصرف الکل در طول دوره نمونه برداری جامعه تحت مطالعه برابر ۰/۳۳۲ میلی‌لیتر به ازای هر نفر با سن برابر و بالای ۱۵ سال (فرد بالغ) در روز بود که در طول یکسال برابر ۰/۱۲۱ لیتر الکل خالص به ازای هر نفر خواهد شد. بین میزان مصرف الکل در روزهای آخر هفته با روزهای کاری هفته و همچنین روزهای نمونه‌گیری واقع در رمضان و روزهای عادی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در ۹۰ درصد نمونه‌های برداشت شده، ریسک ناشی از مصرف الکل بالاتر از $MOE = 100$ بوده (محدوده حفاظتی) و تنها در ۳ نمونه مقدار MOE در محدوده "خطر" قرار گرفت.

نتیجه‌گیری: روش اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب می‌تواند اطلاعات زمانی و موقتی مناسبی در ارتباط با مصرف الکل و خطر مرتبط با آن از لحاظ مواجهه در سطح جامعه فراهم کند. میزان مصرف الکل در جامعه مورد مطالعه نسبت به کشورهای اروپایی و آمریکایی بسیار کمتر بود.

کلمات کلیدی: فاضلاب، اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب، الکل، اتیل سولفات، حاشیه مواجهه، کرمانشاه.

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۸/۸ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۲/۴ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۲۷

مقدمه

مصرف الکل بعنوان یکی از ریسک فاکتورهای بیماری، ناتوانی و مرگ زودرس در جهان شناخته شده است و سالانه منجر به مرگ ۳٫۳ میلیون نفر می شود (۱). مصرف الکل رایج ترین شکل سوء مصرف مواد در دنیا می باشد و سوء مصرف نوشیدنی های الکلی به یک نگرانی جهانی بدل شده است چرا که با بروز بالاتر حوادث رانندگی و تصادفات، جرم و جنایت، آسیب های اقتصادی و هزینه های درمانی در جوامع مختلف ارتباط دارد (۲). پس از مصرف نوشیدنی های الکلی اتانول در کبد توسط اکسیداسیون متابولیزه شده و به استیک اسید و استالدهید تبدیل می شود. مقدار کمی از اتانول هضم شده با اسید گلوکورونیک و سولفات کائزوگه شده و به شکل اتیل گلوکورونید (Ethyl glucuronide, EtG) و اتیل سولفات (Ethyl sulfate, EtS) تبدیل می شود که می توانند در درصدهای بسیار پایین نیز در ادرار دفع شوند. این دو ترکیب برای شناسایی مصرف الکل توسط افراد با موفقیت استفاده شده اند و اخیرا اتیل سولفات برای تخمین مصرف الکل در سطح جوامع نیز استفاده شده است (۱). نشانگر زیستی مخصوص تخمین میزان مصرف الکل اتیل سولفات بوده که توسط نمونه گیری های مرکب فاضلاب در مطالعات مختلفی تعیین مقدار شده است (۳ و ۴). اتیل سولفات متابولیت اتانول بوده که نشان دهنده مصرف اخیر الکل با زمان تشخیص تا ۴۸ ساعت در داوطلبان سالم بوده و در فاضلاب پایدار (stable) می باشد (۵).

روش های سنتی تخمین مصرف الکل و تنباکو در جمعیت شامل آمار فروش، مصاحبه با افراد مصرف کننده، پرونده ها، سوابق پزشکی و نظرسنجی جمعیتی بوده است که اطلاعات جمعیت شناختی و رفتاری مصرف کنندگان را فراهم می کنند (۶). اما روش های نظرسنجی ممکن است بدلیل سوگیری نمونه گیری بالقوه پاسخ های نادرست (عمدی یا غیرعمد) منعکس کننده میزان مصرف واقعی نباشد. بر این اساس آنالیز

شیمیایی نشانگرهای زیستی برونزای مصرف مخدرها و داروها در فاضلاب روش جالبی برای مطالعه مصرف مخدرها و داروها در میان جمعیت مشخصی می باشد (۷). این روش که به نام اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب شناخته شده است اولین بار در سال ۲۰۰۸ برای مطالعه مصرف داروهای غیرقانونی در سه شهر ایتالیا استفاده شد (۸) و تاکنون برای طیف وسیعی از نشانگرهای زیستی برونزای اختصاصی برای مصرف الکل (۳)، تنباکو (۹)، کافئین (۱۰) و داروهای انتخابی (۱۱) استفاده شده است.

اپیدمیولوژی فاضلاب (wastewater-based epidemiology) از موضوعات جدید در ارتباط با مانیتورینگ زیستی انسان بوده که بر تعدادی از مشکلات موجود در این زمینه در روش های موجود (مصاحبه با افراد مصرف کننده، پرونده ها، سوابق پزشکی، آمار تشنج و....) غلبه می کند. این روش بر اساس آنالیز شیمیایی محصولات دفعی متابولیکی انسان (نشانگر زیستی) در فاضلاب شهری برای سنجش مصرف تجمعی یا مواجهه با مواد شیمیایی می باشد. مانیتورینگ فاضلاب دارای پتانسیل استخراج اطلاعات اپیدمیولوژیکی مفید از پروفایل کمی و کیفی نشانگرهای زیستی وارد شده به سیستم فاضلاب می باشد (۱۲). اپیدمیولوژی فاضلاب اطلاعاتی در مورد مواد مصرفی توسط انسان با انجام تجزیه و تحلیل شیمیایی محصولات باقیمانده در فاضلاب جمع آوری می کند (۱۳). اپیدمیولوژی فاضلاب را می توان به عنوان یک آزمایش ادرار دسته جمعی توصیف کرد که در آن از فاضلاب تصفیه نشده یا پساب تصفیه شده که حاوی نمونه های ادرار هزاران نفر است نمونه گیری صورت می گیرد. این رویکرد نه تنها برای داروهای غیر مجاز بلکه برای آلاینده های دیگر مانند محصولات مراقبت شخصی، الکل، کافئین، نیکوتین و.... نیز استفاده می شود (۱۴). مهم ترین مزیت این روش ارائه داده های هدفمند و نزدیک به زمان واقعی، توانایی تشخیص تغییرات در طول

سیگار و برای الکل ۲-۱/۳ نوشیدنی استاندارد (آخر هفته) تخمین زده شد. تخمین آنها با داده های فروش این دو ماده همخوانی داشت (۱۸).

با توجه به اینکه مصرف نوشیدنی های الکلی در کشور ایران حرام است و بنابراین فروش و واردات قانونی در این زمینه انجام نمی شود. بنابراین اطلاعات در این زمینه محدود بوده و اطلاعات موجود هم ممکن است دارای نقص های زیادی باشد. بنابراین استفاده از روش اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب اطلاعات تقریباً موثقی در ارتباط با مصرف الکل فراهم می کند که قبلاً توسط محققى در ایران انجام نشده است و این مطالعه برای اولین بار صورت گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی میزان سرانه مصرف الکل از طریق اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب در شهرستان کرمانشاه در طول یک دوره یک ماهه می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع توصیفی- تحلیلی می باشد. نمونه ها از فاضلاب ورودی تصفیه خانه فاضلاب شهر کرمانشاه جمع آوری گردید. تصفیه خانه فاضلاب کرمانشاه دارای فرایند تصفیه اولیه و ثانویه (لجن فعال متداول) می باشد که روزانه دبی ۵۶۰۰۰ مترمکعب را دریافت می کند و فاضلاب حدود ۴۰۰ هزار نفر وارد این تصفیه خانه می شود. نمونه گیری به تعداد ۳۰ نمونه (جهت تعیین روند مصرف الکل در یک ماه) انجام شد که در اردیبهشت (تعداد ۱۳ نمونه) و خرداد (تعداد ۱۷ نمونه) ۱۴۰۰ صورت گرفت. نمونه برداری مصادف با ماه های April، May و June ۲۰۲۱ میلادی بود. با توجه به اعتقادات مذهبی و تاثیر آن بر روی میزان مصرف الکل، نمونه گیری در روزهایی که مناسبات مذهبی مثل شهادت وجود داشت انجام نشد.

جمع آوری و آماده سازی نمونه

نمونه های مرکب روزانه (۵ ساعتی) از ورودی تصفیه خانه فاضلاب جمع آوری شدند. هر نیم ساعت یک نمونه از

زمان و الگوهای محلی مختلف مورد استفاده است (۸). بنابراین، نظارت بر میزان داروهای و مواد الکلی مصرف شده در جریان فاضلاب شهری به عنوان یک ابزاری برای برآورد مصرف این ترکیبات غیر مجاز جامعه پیشنهاد شده است و می تواند یک مقیاس جامع، سریع و مقرون به صرفه از سوء مصرف مواد و داروهای غیر مجاز در جامعه را ارائه دهد (۱۵).

ریو و همکاران در سال ۲۰۱۶ مطالعه ای با عنوان سنجش مقایسه ای و ارزیابی ریسک کمی مصرف الکل از طریق اپیدمیولوژی فاضلاب در سطح بین المللی در ۲۰ شهر دنیا در ۱۱ کشور انجام دادند. آنها نمونه های فاضلاب خام ۲۴ ساعته را در طول یک هفته جمع آوری کردند و از طریق غلظت اتیل سولفات میزان سرانه مصرف الکل را بدست آوردند که در محدوده ۶/۴ تا ۴۴/۳ لیتر به ازای هر ۱۰۰۰ نفر در روز بود. میزان مصرف الکل در انتهای هفته بالاتر از روزهای دیگر هفته بود (۱۶). وان ویل و همکاران در سال ۲۰۱۶ از اپیدمیولوژی فاضلاب برای ارزیابی مصرف الکل و نیکوتین در بلژیک استفاده کردند. نمونه های فاضلاب هفته ای دو بار و برای چهار هفته از تصفیه خانه فاضلاب این شهر جمع آوری و آنالیز شد. آنها گزارش کردند که هم مصرف الکل و هم نیکوتین در انتهای هفته افزایش می یابد ولی در هفته های مختلف الگوهای مصرف متفاوتی داشته است (۱۷). ین لای و همکاران در سال ۲۰۱۸ مصرف الکل و نیکوتین را از طریق اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب در استرالیا بررسی کردند. آنها نمونه های روزانه فاضلاب را از ۱۸ تصفیه خانه استرالیا که ۴۵٪ کل جمعیت این کشور را تشکیل می دهد را جمع آوری نمودند و متابولیت های ناشی از الکل و نیکوتین را اندازه گیری نمودند. در همه نمونه ها مصرف الکل و نیکوتین گزارش شد و مصرف این دو ماده در شهرهای کوچک ۳ تا ۴ برابر بیشتر از شهرهای بزرگ بود. مصرف میانگین روزانه به ازای شخص (سن ۱۵ تا ۷۹ سال) برای نیکوتین برابر ۲/۵

۲/۵ دقیقه؛ بعد ۳۵٪ برای ۲/۵۱ دقیقه و ۵٪ برای ۵ دقیقه بعد برای تعادل ستون تنظیم شد. حجم تزریق نمونه ۲۰ میکرو لیتر بود. همه آنالیت های انتخاب شده در مد یونیزاسیون منفی (ESI⁻) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آنالیز کمی در مد MMR (Multiple reaction monitoring) انجام شد (۲).

آنالیز داده ها و محاسبه معکوس

سرانه مصرف الکل ($Vol_{Alcohol}$) از طریق رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$Vol_{Alcohol} (\text{ethanol ml/person age } 15+ / \text{day}) = \frac{Q_{day} \times C_{Ets} \times f_{Alcohol}}{R_{15+} \times P \times \rho_{Alcohol}}$$

که در این رابطه Q_{day} نشاندهنده دبی ورودی فاضلاب خام به تصفیه خانه (لیتر بر روز)، C_{Ets} غلظت اتیل سولفات در فاضلاب (میکروگرم بر لیتر)، $f_{Alcohol}$ بیانگر فاکتور تصحیح Ets بعد از مصرف الکل (۳۳۲۰) و P تعداد افراد تحت پوشش تصفیه خانه فاضلاب می باشد (۶). R_{15+} درصد جمعیت بالای ۱۵ سال (برابر ۶۹ درصد بر اساس مرکز آمار ایران) و $\rho_{Alcohol}$ جرم مخصوص الکل (۰/۷۸۹ g/ml) است. همچنین میزان مصرف الکل بر اساس mg/person/day از طریق ضرب مقدار بدست آمده در رابطه بالا در ۷۸۹ بدست آمد.

در این مطالعه همچنین از آزمون ناپارامتریک (با توجه به ماهیت غیر نرمال بودن داده های سرانه مصرف الکل) -Mann-Whitney برای بررسی اختلاف بین مصرف الکل در روزهای هفته و آخر هفته و همچنین اختلاف بین میزان مصرف در روزهای نمونه گیری واقع در رمضان و روزهای نمونه گیری واقع در روزهای عادی استفاده شد. برای انجام محاسبات آماری (آزمونهای من ویتنی و آزمون تی تست) از نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ استفاده شد.

ارزیابی ریسک بهداشتی ناشی از الکل

ورودی تصفیه خانه فاضلاب گرفته شد و در نهایت پس از ۵ ساعت یک لیتر از کل نمونه گرفته شده (بعد از هم زدن و یکنواخت کردن محتوای ظرف) بر طبق روش های استاندارد نمونه گیری جهت اندازه گیری نشانگر زیستی اتیل سولفات در فاضلاب در داخل ظروف تیره رنگ استریل در دمای ۴ درجه سلسیوس به آزمایشگاه منتقل شد. pH نمونه ها بلافاصله پس از جمع آوری به منظور جلوگیری از تجزیه آنالیت توسط میکروارگانیزم های فاضلاب، با استفاده از HCl غلیظ به حدود ۲ رسید. حدود ۲۰ سی سی از نمونه از فیلتر سرسرنگی فیبر شیشه ای (Glass Fiber, GF) با اندازه منافذ $1/2 \mu m$ عبور داده شد و تا زمان آنالیز در فریزر $18^{\circ}C$ - نگهداری شد (۶).

آنالیز اتیل سولفات

برای آنالیز اتیل سولفات به عنوان متابولیت ناشی از مصرف الکل در نمونه های فاضلاب، ۱ میلی لیتر از فاضلاب خام در rpm ۳۵۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و ۱۹۰ میکرو لیتر از سوپرناتانت آن جداسازی شد و با ۱۰ میکرو لیتر از استاندارد داخلی اتیل سولفات دوتره شده (ethyl sulfate- d_5) (۵ نانو گرم) اسپایک شد، بعد از چرخش مناسب نمونه و فیلتراسیون با فیلتر $0/22 \mu m$ نمونه ها مستقیماً به دستگاه LC-MS/MS برای آنالیز تزریق گردید. جداسازی کروماتوگرافی توسط سیستم کروماتوگرافی مایع مجهز به (Shimadzu CBM-20A Ultra-Fast, Kyoto, Japan) و مجهز به سیستم نمونه گیری اتوماتیک (Shimadzu SIL-20A/HT) و طیف سنجی جرمی (Shimadzu 8040) انجام شد. آنالیت ها با استفاده از ستون $2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ Raptor}$ μm ، نوع Restek، جداسازی شد. دمای ستون ۴۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید. نرخ جریان ۰/۳ میلی لیتر بر دقیقه بود. شستشو آنالیت با استفاده از یک فاز متحرک ۰/۱٪ اسید استیک در آب فوق خالص (محلول A) و استونیتریل (محلول B) انجام شد. گرادیانت با ۵٪ محلول B شروع شد به مدت

بهداشتی) می باشد که از اکستراپوله کردن LD₅₀ حیوانی بدست می آید. مقدار ۱۰ BMDL برای الکل برابر (mg/kg body weight) ۵۴۸/۲ با انحراف معیار (SD) ۱۳۱/۹ محاسبه شد. جزئیات پارامترهای استفاده شده برای شبیه سازی مونت کارلو در جدول ۱ بیان شده است. در نهایت با استفاده از داده های سرانه الکل مصرفی بدست آمده از آنالیز فاضلاب، جمعیت در معرض مواجهه برای افراد استفاده کننده از تصفیه خانه فاضلاب تخمین زده شده است (۱۶).

برای ارزیابی ریسک بهداشتی از روش MOE استفاده شد. در این مطالعه مقدار MOE برای ارزیابی ریسک کمی الکل از طریق شبیه سازی مونت کارلو در نرم افزار کریستال بال (ورژن 11.1.2.4) محاسبه گردید. MOE نسبت بین حد اطمینان پایین دوز پنج مارک (Benchmark-dose lower bound, BMDL) بدست آمده از دوز کشنده میانگین (۵۰، LD₅₀Lethal Dose) و مواجهه تخمینی جمعیت بر اساس آنالیز فاضلاب می باشد. مقدار BMDL استفاده شده در این مطالعه BMDL₁₀ BMDL برای ۱۰٪ شیوع اثرات

جدول ۱: جزئیات پارامترهای ارزیابی ریسک مقایسه ای احتمالی مصرف الکل

MOE	وزن بدن (kg) ^b	مواجهه (mg/day/person)	سرانه مصرفی (L/day/1000 inhabitants)	BMDL ₁₀ (mg/kg body weight)	LD ₅₀ (mg/kg body weight) ^a
MOE for city	نرمال (۷۳/۹، ۱۲)	۰/۷۸۹ × سرانه مصرفی × ۱۰۰۰	Normal (mean, SD) with truncation (min, max) ^e	LD ₅₀	Normal (۵۵۹۳، ۱۳۴۶) with truncation
MOE for whole population			Uniform (۶/۳۹۸۲، ۴۴/۲۸۵۶)	10.2	(۳۴۵۰، ۷۰۶۰)

a میانگین دوز کشنده برای خوک، موش، خرگوش و رت

b مقدار در نظر گرفته شده برای وزن بدن بر اساس جامعه علمی EFSA می باشد

یافته ها

میزان مصرف روزانه الکل بر اساس آنالیز فاضلاب

ناشی از مصرف الکل از طریق MOE، سرانه مصرف الکل بر حسب میلی لیتر به ازای هر شخص در روز و نرمال سازی شده آن به جمعیت ۱۰۰۰ نفری می باشد.

جدول ۲ حاوی اطلاعاتی از زمان نمونه برداری، غلظت Ets در نمونه های ورودی تصفیه خانه فاضلاب، میزان ریسک

جدول ۲: اطلاعات روزهای نمونه برداری، غلظت اتیل سولفات، ریسک ناشی از مصرف الکل بر طبق روش MOE، و سرانه مصرف الکل در نمونه های برداشت شده از ورودی تصفیه خانه فاضلاب شهر کرمانشاه

شماره نمونه	ماه نمونه برداری	تاریخ نمونه برداری ^o	غلظت Ets	MOE	سرانه مصرف الکل (میلی لیتر/نفر/روز)	سرانه مصرف الکل (میلی لیتر/نفر/روز)
۱	April	۲۴/۴/۲۱ Sa (R)	۰/۴۷۹	۱۲۵/۲	۰/۲۸۳	۲۸۲/۹۹
۲	April	۲۶/۴/۲۱ M(R)	۰/۱۸۶	۳۲۲/۵	۰/۱۱۰	۱۰۹/۸۹
۳	April	۲۸/۴/۲۱ W(R)	۰/۱۷۶	۳۴۰/۸	۰/۱۰۴	۱۰۳/۹۸
۴	May	۱/۵/۲۱ Sa (R)	۰/۵۵۶	۱۰۷/۹	۰/۳۲۸	۳۲۸/۴۸
۵	May	۳/۵/۲۱ M(R)	۰/۲۵۸	۲۳۲/۵	۰/۱۵۲	۱۵۲/۴۲

۱۷۰/۱۵	۰/۱۷۰	۲۰۸/۳	۰/۲۸۸	۵/۵/۲۱ W(R)	May	۶
۱۰۶/۳۴	۰/۱۰۶	۳۳۳/۲	۰/۱۸۰	۷/۵/۲۱ F(R)	May	۷
۱۸۹/۰۵	۰/۱۸۹	۱۸۷/۴	۰/۳۲۰	۹/۵/۲۱ Su(R)	May	۸
۱۶۵/۴۲	۰/۱۶۵	۲۱۴/۲	۰/۲۸۰	۱۱/۵/۲۱ T(R)	May	۹
۲۱۸/۵۹	۰/۲۱۹	۱۶۲/۱	۰/۳۷۰	۱۲/۵/۲۱ W(R)	May	۱۰
۱۰۲/۸۰	۰/۱۰۳	۳۴۴/۷	۰/۱۷۴	۱۷/۵/۲۱ M	May	۱۱
۲۴۲/۲۲	۰/۲۴۲	۱۴۶/۳	۰/۴۱۰	۱۹/۵/۲۱ W	May	۱۲
۲۸۹/۴۸	۰/۲۸۹	۱۲۲/۴	۰/۴۹۰	۲۱/۵/۲۱ F	May	۱۳
۲۶۷/۰۳	۰/۲۶۷	۱۳۲/۷	۰/۴۵۲	۲۳/۵/۲۱ Su	May	۱۴
۲۸۸/۸۹	۰/۲۸۹	۱۲۲/۷	۰/۴۸۹	۲۵/۵/۲۱ T	May	۱۵
۲۵۸/۷۶	۰/۲۵۹	۱۳۶/۹	۰/۴۳۸	۲۷/۵/۲۱ Th	May	۱۶
۲۷۰/۵۸	۰/۲۷۱	۱۳۱	۰/۴۵۸	۲۸/۵/۲۱ F	May	۱۷
۴۹۷/۷۲	۰/۴۸۰	۷۳/۹	۰/۸۱۲	۲۹/۵/۲۱ Sa	May	۱۸
۲۰۹/۷۳	۰/۲۱۰	۱۶۹	۰/۳۵۵	۳۱/۵/۲۱ M	May	۱۹
۲۵۶/۴۰	۰/۲۵۶	۱۳۸/۲	۰/۴۳۴	۲/۶/۲۱ W	June	۲۰
۲۹۱/۲۶	۰/۲۹۱	۱۲۱/۷	۰/۴۹۳	۳/۶/۲۱ Th	June	۲۱
۴۴۳/۶۸	۰/۴۴۴	۷۹/۹	۰/۷۵۱	۷/۶/۲۱ M	June	۲۲
۱۲۶/۴۳	۰/۱۲۶	۲۸۰/۳	۰/۲۱۴	۹/۶/۲۱ W	June	۲۳
۳۲۸/۴۸	۰/۳۲۸	۱۰۷/۹	۰/۵۵۶	۱۱/۶/۲۱ F	June	۲۴
۴۲۳	۰/۴۲۳	۸۳/۸	۰/۷۱۶	۱۳/۶/۲۱ Su	June	۲۵
۱۳۸/۲۴	۰/۱۳۸	۲۵۶/۳	۰/۲۳۴	۱۵/۶/۲۱ T	June	۲۶
۱۴۳/۵۶	۰/۱۴۴	۲۴۶/۸	۰/۲۴۳	۱۷/۶/۲۱ Th	June	۲۷
۲۱۵/۶۴	۰/۲۱۶	۱۶۴/۳	۰/۳۶۵	۱۸/۶/۲۱ F	June	۲۸
۱۰۸/۷۰	۰/۱۰۹	۳۲۶	۰/۱۸۴	۲۰/۶/۲۱ Su	June	۲۹
۱۶۷/۱۹	۰/۱۶۷	۲۱۱/۹	۰/۲۸۳	۲۱/۶/۲۱ M	June	۳۰

* تاریخ نمونه برداری بر حسب ماه میلادی می باشد

R: رمضان، Sa: شنبه، Su: یکشنبه، M: دوشنبه، T: سه شنبه، W: چهارشنبه، Th: پنجشنبه و F: جمعه

مصرف الکل در جمعیت بالای ۱۵ سال ایران به ازای هر نفر ۰/۱۴۸-۰/۶۹۵ میلی لیتر در روز است. نرمالایز کردن این مقدار به جمعیت ۱۰۰۰ نفری نشاندهنده مصرف الکل ۱۴۸-۶۹۵ ml/1000 inh./day در شهر کرمانشاه می باشد. میانگین الکل مصرفی در همه روزهای مورد مطالعه ۰/۳۳۲ ml/person/day است. کمترین میزان مصرف الکل در یک روز کاری (چهارشنبه) در نمونه برداشته شده واقع در ماه رمضان حاصل گردید و بیشترین میزان مصرف در

همانطور که در جدول ۲ مشخص است غلظت متابولیت اتیل سولفات در نمونه های فاضلاب خام ورودی بین ۰/۸۲۲-۰/۱۷۶ میکروگرم بر لیتر است و با در نظر گرفتن ۵۶۱۶۰ مترمکعب میانگین دبی فاضلاب ورودی به تصفیه خانه در روز، سرانه مصرف الکل برابر با ۰/۴۸۰ ml/person/day می باشد. براساس اطلاعات مرکز آمار ایران و سرشماری سال ۱۳۹۵، ۶۹٪ از جمعیت بالای ۱۵ سال هستند و عمدتاً افراد بزرگسال الکل مصرف می کنند و بنابراین دامنه

جرمی ۷۸۹ mg/ml، کمترین و بیشترین سرانه مصرف الکل به ترتیب برابر ۱۱۹ و ۵۴۸/۵ mg/person/day و میانگین مصرف الکل ۲۶۲/۲ mg/person/day است.

با توجه به توزیع غیرنرمال داده‌های غلظت نشانگر زیستی اتیل سولفات و تابع آن میزان مصرف الکل از آزمون ناپارامتریک Mann-Whitney برای مقایسه نتایج استفاده شد. جداول میانگین رتبه و مجموع رتبه‌ها برای مقایسه میان میزان مصرف الکل در طول روزهای هفته و انتهای هفته و نیز برای مقایسه میانگین مصرف الکل در ماه رمضان و روزهای عادی بر اساس نتایج آزمون Mann-Whitney در زیر آمده است.

روز شنبه واقع در یک روز عادی مشاهده شد. با توجه به اینکه انتظار بر این است که جمعیت مصرف کننده الکل معمولاً در روزهای تعطیل و آخر هفته الکل مصرف کنند و از آنجایی که بین مصرف الکل، دفع متابولیت و رسیدن آن در فاصله بین نقطه ورود آن به فاضلاب تا تصفیه خانه فاضلاب یک مدت زمان ۸-۷ ساعته نیاز است بنابراین انتظار می رود که نمونه های برداشته شده در روز شنبه بیشتر میزان غلظت متابولیت را نشان دهد که این امر در داده های جمع آوری شده مشاهده می شود و بیشترین میزان مصرف الکل در روز شنبه بدست آمده است. با تبدیل سرانه مصرف الکل از میلی لیتر در روز به میلی گرم بر روز به ازای نفر با دخیل کردن دانسیته

جدول ۳: مقایسه میانگین مصرف الکل در طول روزهای هفته (روزهای کاری) و انتهای هفته (تعطیلات) با استفاده از آزمون Mann-Whitney

سرانه مصرف الکل	روز هفته	تعداد	میانگین رتبه	مجموع رتبه ها	Mann-Whitney U	p-value
ml/person/day	کاری	۲۲	۱۴/۷۰	۳۲۳/۵۰		
	تعطیل	۸	۱۷/۶۹	۱۴۱/۵۰		
کل		۳۰			۷۰/۵۰	۰/۴۱۲

جدول ۴: مقایسه میانگین مصرف الکل در ماه رمضان و روزهای عادی با استفاده از آزمون Mann-Whitney

سرانه مصرف الکل	روز	تعداد	میانگین رتبه	مجموع رتبه ها	Mann-Whitney U	p-value
ml/person/day	رمضان	۲۰	۱۷/۳۳	۳۴۶/۵۰		
	عادی	۱۰	۱۱/۸۵	۱۱۸/۵۰		
کل		۳۰			۶۳/۵۰	۰/۱۰۸

حاشیه مرز بود که با آزمون تی تست مشخص گردید و مقدار $p\text{-value} = ۰/۷۹$ محاسبه گردید. میانگین میزان مصرف در روزهای ماه رمضان ۲۶۴/۸۲ ml/1000 inh./day و در روزهای عادی ۳۶۶/۰۷ ml/1000 inh./day است.

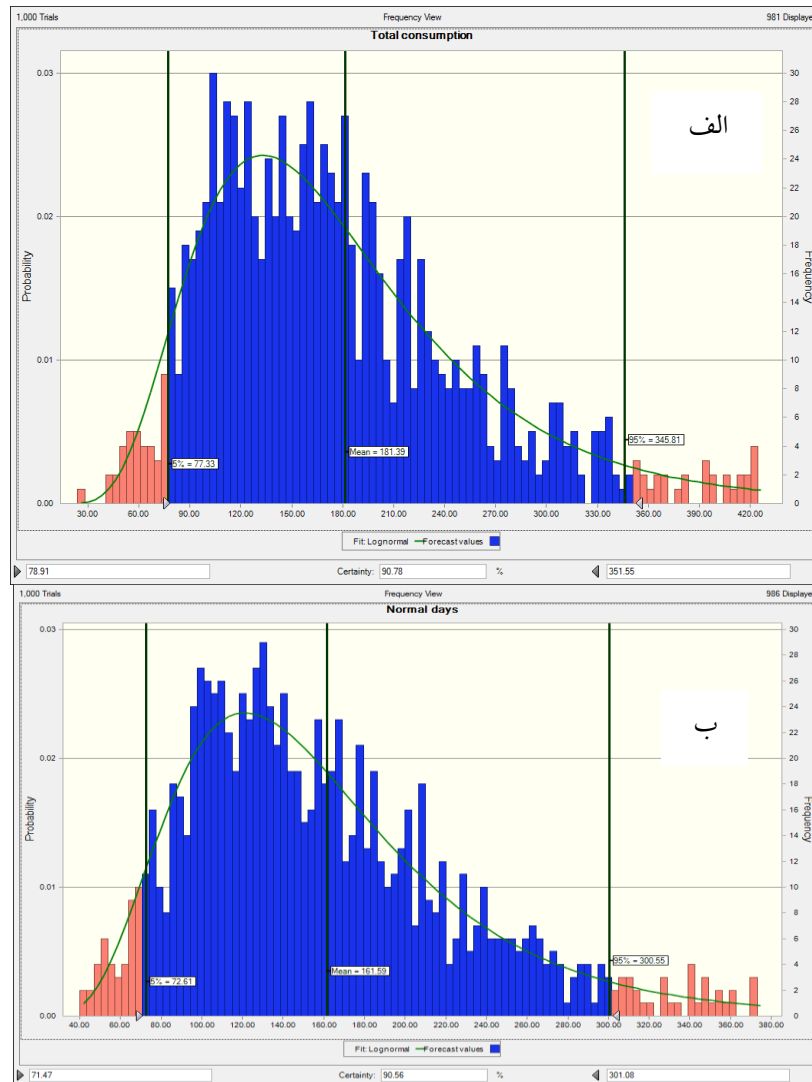
ارزیابی ریسک بهداشتی مصرف الکل بر اساس روش MOE

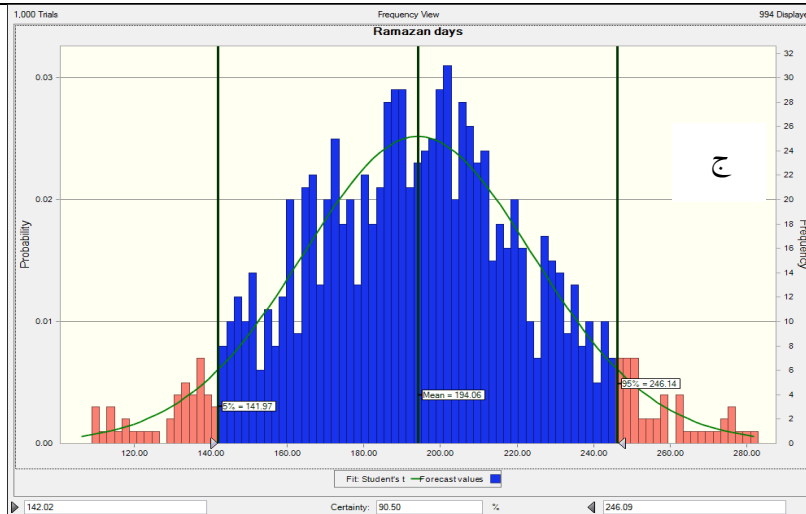
نتایج ارزیابی ریسک بهداشتی بر اساس روش MOE در جدول ۲ نشان داده شد. MOE در دامنه ۷۴-۳۴۴ است. بر اساس طبقه بندی، MOE کمتر از ۱۰ را شامل ریسک بالا و کمتر از ۱۰۰ را شامل ریسک طبقه بندی می کنند. در ۹۰ درصد نمونه های برداشته شده، ریسک ناشی از مصرف الکل

میان میزان مصرف الکل در طول روزهای هفته و انتهای هفته بر اساس نتایج آزمون Mann-Whitney (جدول ۳) اختلاف معنی داری وجود ندارد اگر چه میزان مصرف در انتهای هفته (Mean rank = ۱۷/۶۹) بیشتر از روزهای هفته (۱۴/۷۰) = Mean rank می باشد. میانگین میزان مصرف در روزهای طول هفته ۳۲۷/۷۳ ml/1000 inh./day و در روزهای آخر هفته (پنج شنبه و جمعه) ۳۴۴/۹۴ ml/1000 inh./day است. نتایج همین آزمون برای مقایسه مصرف الکل در نمونه های گرفته شده در طول ماه رمضان و روزهای عادی نیز اختلاف معنی داری نشان نداد (جدول ۴) ولی تفاوت معنی داری

محاسبه شده برای MOE نمونه‌های برداشته شده از فاضلاب خام وارد شده به تصفیه خانه شهر کرمانشاه برای میزان مصرف الکل در محدوده ۱۰۰-۱۰۰۰۰ قرار داشتند. مقادیر بالای MOE ناشی از سرانه پایین مصرف الکل می باشد. تورنادوگراف میانگین و ۹۵ درصد میزان MOE مصرف روزانه الکل بر اساس شبیه سازی مونت کارلو در نمودار ۱ نشان داده شد. برای همه نمونه‌ها، میانگین MOE برابر ۱۸۱ با حد اطمینان ۳۴۵-۷۷ می‌باشد.

بالاتر از $MOE = 100$ بوده و تنها در ۳ نمونه مقدار MOE در محدوده ریسک قرار گرفته است. در خصوص مواد شیمیایی با آستانه‌های بهداشتی (مثل مواد غیر سرطانزا و غیر ژنوتوکسیک) $MOE \geq 100$ به عنوان محافظتی در نظر گرفته می شود و برای ترکیبات سرطانزا و آسیب رسان به DNA که دارای مقدار NOAEL (no-observed-adverse-effect level) EFSA (European Food Safety Authority) نیستند مقدار $MOE \geq 10000$ را به عنوان محافظت کننده در نظر گرفته است. به هر صورت مقادیر





نمودار ۱: تورنادوگراف میانگین و ۹۵ درصد میزان MOE مصرف روزانه الکل سنجش شده توسط روش اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب. (الف) کل نمونه های برداشت شده، (ب) نمونه های روزهای عادی و (ج) نمونه های روزهای ماه رمضان

بحث

به صورت کلی میانگین میزان مصرف الکل در طول ۳۰ روز نمونه برداری برای این جامعه تحت مطالعه برابر ۰/۳۳۲ میلی-لیتر به ازای هر نفر با سن برابر و بالای ۱۵ سال (فرد بالغ) در روز بود که در طول یکسان برابر ۱۲۱/۳ میلی-لیتر یا ۰/۱۲۱ لیتر الکل خالص به ازای هر نفر خواهد شد. این نتیجه با مقدار گزارش شده توسط مطالعات پرسشنامه ای مرکز ملی مطالعات اعتیاد ایران که میزان مصرف الکل را در مطالعات پرسشنامه ای خود معادل حدود ۰/۱ لیتر الکل خالص در طول سال به ازای هر فرد بالغ بدست آورده؛ مطابقت دارد (۱۹). بر طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۴ بر روی الکل و سلامتی، سرانه سالانه مصرف الکل برای فرد بالغ (بالای ۱۵ سال) در منطقه آمریکایی WHO برابر ۸ لیتر و در منطقه اروپایی برابر ۱۱ لیتر است که بسیار بالاتر از مقدار مصرف شده در منطقه مدیترانه شرقی که ایران هم در آن عضو است؛ می باشد و مقدار سالانه برای این منطقه کمتر از ۱ لیتر تخمین زده شده است (۲۰).

بنابراین نتایج این مطالعه نشان می دهد که مطالعات اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب ابزار قدرتمندی برای تعیین سرانه مصرف داروهای غیر مجاز و همچنین الکل از طریق آنالیز فاضلاب می باشد. به هر حال این مطالعات محدودیت هایی هم دارند از جمله اینکه مشخصات دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه از جمله توزیع سنی، فرکانس مصرف و شیوع مصرف کننده های سنگین مشخص نمی گردد. همچنین اطلاعات افراد تحت پوشش تصفیه خانه فاضلاب از طریق بهره بردار آن تهیه می شود که میزان عدم اطمینان آن نامشخص می باشد (۶).

مقایسه میزان مصرف الکل در جوامع مختلف بر اساس اپیدمیولوژی برپایه فاضلاب در جدول ۵ آمده است. داده ها نشاندهنده وسیع بودن دامنه مصرف الکل در اکثر کشورها می باشد و میزان مصرف در کشورهای دیگر ده ها و در مواردی صدها برابر بیشتر از میزان محاسبه شده در این مطالعه است. در مطالعه ای که در سه شهر ایالات متحده آمریکا صورت گرفته است سرانه مصرف بسیار زیاد و معادل با ۲۹/۴ لیتر گزارش شده است. دلایل مصرف بالای الکل در سایر کشورها آزاد بودن مصرف و خرید و فروش قانونی الکل در

مصرف آن نیز براساس مذهب اسلام حرام است.

کشورهای اروپایی، ایالات متحده و چین است. این در حالی است که در ایران خرید و فروش الکل غیرقانونی است و

جدول ۵: مقایسه میزان مصرف الکل در کشورهای مختلف

کشور، شهر	مصرف الکل (میانگین) (mL/1000 inh/day)	جمعیت	تعداد تصفیه خانه فاضلاب	سال	رفرنس
ایران، کرمانشاه	۳۲۷/۷۳	۲۷۶۰۰۰(+۱۵)	۱	۲۰۲۱	مطالعه حاضر
ترکیه، ۱۱ شهر	۳۴۶۰ ± ۱۸۳۰	۱۲۱۱۳۶۰۰(+۱۵)	۱۸	۲۰۱۹	(۲۱)
ترکیه، استانبول	۳۹۱۶۹/۵۳ ± ۳۴۶۹۲/۹۷	۱۵۱۴۲۰۰۰(+۱۵)	۱۴	۲۰۱۹	(۲۲)
ترکیه، آدنا	۴۲۹۷/۳۸۸ ± ۱۸۵۵/۱۲۷	۱۱۴۷۶۶۳(+۱۵)	۲	۲۰۱۶-۲۰۱۷	(۲۳)
اسپانیا، ۱۳ شهر	۲۵۲۵۰ ± ۱۰۳۷۵	۵۱۰۴۳۱۱(+۱۵)	۱۷	۲۰۱۸	(۲۴)
استرالیا، ۵ ایالت	۱۴۷۳۳/۷۹ ± ۴۰۳۹/۹۱	۱۹۴۶۸۸۰۰(+۱۵)	۱۸	۲۰۱۴-۲۰۱۵	(۱۸)
ایالات متحده، ۳ شهر	۳۶۷۱۲/۳۳ ± ۱۵۳۴۲/۴۷	۱۷۹۷۷۵/۶(+۱۵)	۳	۲۰۱۵-۲۰۱۶	(۲۵)

روزهای مورد مطالعه ml/person/day ۰/۳۳۲ بود. بین میزان مصرف الکل در روزهای کاری هفته با روزهای آخر هفته و همچنین بین نمونه‌های برداشت شده در ماه رمضان با نمونه‌های روزهای عادی اختلاف معنی داری مشاهده نشد. ارزیابی ریسک کمی با روش MOE نشان داد که فقط ۱۰ درصد نمونه‌های برداشت شده در محدوده خطر قرار می‌گیرد. اگرچه این مطالعه تنها در یک شهر ایران برای یک دوره زمانی ۳۰ روزه صورت گرفت اما نتایج میزان مصرف با نتایج اعلام شده توسط وزارت بهداشت که سرانه مصرف الکل معادل حدود ۰/۱ لیتر الکل خالص به ازای هر فرد بالغ بدست آورده مطابقت دارد و مخدوش کننده اطلاعات سازمان‌های خارجی بوده که رتبه مصرف الکل در ایران را بسیار بالاتر گزارش کرده‌اند.

همچنین در این مطالعه میانگین میزان مصرف در روزهای عادی ml/1000 inh./day ۳۶۶/۰۷ بیشتر از روزهای ماه رمضان ml/1000 inh./day ۲۶۴/۸۲ است. از دلایل این امر می‌توان به کم بودن تعداد نمونه‌های واقع در ماه رمضان اشاره کرد که تقریباً یک سوم تعداد نمونه‌های واقع در روزهای عادی بود. مقدار MOE بدست آمده در این مطالعه بسیار بیشتر از مقادیر بدست آمده در مطالعه ریو و همکاران در سال ۲۰۱۶ بوده که ارزیابی ریسک بهداشتی الکل را در ۲۰ شهر در ۱۱ کشور اروپایی اندازه‌گیری کردند. در مطالعه آنها همه شهرهای مورد مطالعه در طبقه بندی ریسک بالا قرار گرفت و میانگین MOE برای کل جمعیت مطالعه شده برابر ۲/۵ گزارش شده است (۱۶).

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (با کد اخلاق

نتیجه‌گیری

نتایج استفاده از روش اپیدمیولوژی بر پایه فاضلاب در شهر کرمانشاه نشان می‌دهد که میانگین مصرف الکل در همه

نویسندگان این مطالعه، افراد و دستگاه‌ها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

IR.KUMS.REC.1399.617 و کد طرح (۹۹۰۷۸۱) می باشد که از این معاونت قدردانی بعمل می آید. هیچ کدام از

منابع

- Rodríguez-Álvarez T, Racamonde I, González-Mariño I, Borsotti A, Rodil R, Rodríguez I, et al. Alcohol and cocaine co-consumption in two European cities assessed by wastewater analysis. *Sci Total Environ*. 2015;536:91-8.
- Boogaerts T, Covaci A, Kinyua J, Neels H, van Nuijs AL. Spatial and temporal trends in alcohol consumption in Belgian cities: A wastewater-based approach. *Drug Alcohol Depend*. 2016;160:170-6.
- Reid MJ, Langford KH, Mørland J, Thomas KV. 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):1593-9.
- Rodríguez-Álvarez T, Rodil R, Cela R, Quintana JB. 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.
- Helander A, Böttcher M, Fehr C, Dahmen N, Beck O. Detection times for urinary ethyl glucuronide and ethyl sulfate in heavy drinkers during alcohol detoxification. *Alcohol Alcohol*. 2009;44(1):55-61.
- Gao J, Zheng Q, Lai FY, Gartner C, Du P, Ren Y, et al. Using wastewater-based epidemiology to estimate consumption of alcohol and nicotine in major cities of China in 2014 and 2016. *Environ Int*. 2020;136:105492.
- Thomas KV, Reid MJ. What else can the analysis of sewage for urinary biomarkers reveal about communities? : ACS Publications; 2011.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R. Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environ Health Perspect*. 2008;116(8):1027-32.
- Castiglioni S, Bijlsma L, Covaci A, Emke E, Hernández Fl, Reid M, 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):1452-60.
- Senta I, Gracia-Lor E, Borsotti A, Zuccato E, Castiglioni S. 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.
- Baz-Lomba JA, Reid MJ, Thomas KV. Target and suspect screening of psychoactive substances in sewage-based samples by UHPLC-QTOF. *Anal Chim Acta*. 2016;914:81-90.
- Gracia-Lor E, Rousis NI, Hernández F, Zuccato E, Castiglioni S. Wastewater-based epidemiology as a novel biomonitoring tool to evaluate human exposure to pollutants. ACS Publications; 2018.
- Eslami A, Amini MM, Yazdanbakhsh AR, Rastkari N, Mohseni-Bandpei A, Nasseri S, et al. Occurrence of non-steroidal anti-inflammatory drugs in Tehran source water, municipal and hospital wastewaters, and their ecotoxicological risk assessment. *Environ Monit Assess*. 2015;187(12):734.
- Wang D, Singhasemanon N, Goh KS. A review of diazinon use, contamination in surface waters, and regulatory actions in California across water years 1992–2014. *Environ Monit Assess*. 2017;189(7):310.
- Skees AJ, Foppe KS, Loganathan B, Subedi B. Contamination profiles, mass loadings, and sewage epidemiology of neuropsychiatric and illicit drugs in wastewater and river waters from a community in the Midwestern United States. *Sci Total Environ*. 2018;631:1457-64.
- Ryu Y, Barceló D, Barron LP, Bijlsma L, Castiglioni S, de Voogt 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;565:977-83.
- van Wel J, Gracia-Lor E, van Nuijs A, Kinyua J, Salvatore S, Castiglioni S, 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;162:170-5.

18. Lai FY, Gartner C, Hall W, Carter S, O'Brien J, Tschärke BJ, et al. Measuring spatial and temporal trends of nicotine and alcohol consumption in Australia using wastewater-based epidemiology. *Addiction*. 2018;113(6):1127-36.
19. Amin-Esmaeili M, Motevalian A, Hajebi A, Sharifi V, Stockwell T, Rahimi-Movaghar A. Methods for calculation of per capita alcohol consumption in a Muslim majority country with a very low drinking level: Findings from the 2011 Iranian mental health survey. *Drug Alcohol Rev*. 2018 Nov;37(7):874-8.
20. Lankarani KB, Afshari R. Alcohol consumption in Iran. *The Lancet*. 2014;384(9958):1927-8.
21. Yavuz Guzel E, Atasoy A, Gören İE, Daglioglu N. Estimation of alcohol and nicotine consumption in 11 cities of Turkey using wastewater-based epidemiology. *Drug Test Anal*. 2021;13(4):853-61.
22. Asicioglu F, Genc MK, Bulbul TT, Yayla M, Simsek S, Adioren C, et al. Investigation of temporal illicit drugs, alcohol and tobacco trends in Istanbul city: Wastewater analysis of 14 treatment plants. *Water Res*. 2021;190:116729.
23. Daglioglu N, Atasoy A, Asadi A, Guzel EY, Dengiz H. Estimating alcohol consumption by using wastewater-based epidemiology in Adana Province, Turkey. *Environ Sci Pollut Res*. 2020;27(25):31884-91.
24. López-García E, Pérez-López C, Postigo C, Andreu V, Bijlsma L, González-Mariño I, et al. Assessing alcohol consumption through wastewater-based epidemiology: Spain as a case study. *Drug Alcohol Depend*. 2020;215:108241.
25. Chen J, Venkatesan AK, Halden RU. Alcohol and nicotine consumption trends in three US communities determined by wastewater-based epidemiology. *Sci Total Environ*. 2019; 15;656:174-83.