

مروری بر بررسی حضور کرونا ویروس (کووید ۱۹) در آب و فاضلاب

مریم السادات میرباقری فیروزآباد^{*}، کیارش صادقیان اصفهانی^۱

مقاله مروری

مقدمه: آب می‌تواند محیط ناقل برای عوامل بیماری‌زا باشد یا شرایط را برای شیوع یک بیماری یا موارد مختلف عفونی فراهم کند. اپیدمی ویروس SARS-CoV-2 در ۱۲ مارس ۲۰۲۰ توسط سازمان جهانی بهداشت اعلام شد. راه‌های اصلی انتقال این ویروس انتقال از طریق دراپلت‌ها و فرد به فرد است، اگرچه تحقیقات اخیر حضور RNA ویروسی در فاضلاب را تایید می‌کند و در نتیجه به مطالعات بیشتری بر روی فاضلاب، به عنوان منبع احتمالی انتقال ویروس، برای شناخت اپیدمیولوژی این ویروس و روش‌هایی برای تشخیص و کمیت‌سنجی آن نیاز است. حضور ویروس فاضلاب می‌تواند به عنوان هشدار اولیه ظهور دوباره کووید ۱۹ در شهرها باشد. ایزولاسیون چاه‌های فاضلاب و به‌طور کلی مراقبت از ورود آب‌های حاوی ویروس به منابع آب در کنترل ویروس سهم بسزایی خواهند داشت. در این مقاله مروری به بررسی مقالات اخیر درباره امکان حضور و انتقال انواع ویروس‌ها به ویژه کرونا ویروس‌ها (SARS-CoV-2)، از طریق فاضلاب و هم‌چنین انواع روش‌های موجود برای استخراج RNA ویروسی و شناسایی آن در نمونه‌های گرفته شده از فاضلاب پرداخته شده است. انواع روش‌ها برای تغلیظ نمونه‌های ویروسی برای یافتن بهترین روش استفاده شده برای تغلیظ کووید ۱۹ نیز مورد بررسی قرار گرفته است. نتیجه گیری: شناسایی ویروس در فاضلاب حتی اگر شیوع کووید ۱۹ کم باشد، نشان می‌دهد که نظارت بر فاضلاب می‌تواند راهی برای نظارت بر گردش ویروس در جامعه باشد.

واژه‌های کلیدی: آب، فاضلاب، تشخیص، کرونا ویروس، کووید ۱۹

ارجاع: میرباقری فیروزآباد مریم السادات، صادقیان اصفهانی کیارش. مروری بر بررسی حضور کرونا ویروس (کووید ۱۹) در آب و فاضلاب. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۱۲): ۴۳-۴۳۳۲.

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۳۵۳۱۲۳۲۲۹۳، پست الکترونیکی: M.Mirbagheri@yazd.ac.ir، صندوق پستی: ۸۹۱۵۸۱۸۴۱۱

مشاهدات ویروس کرونا در آب یا فاضلاب

ویروس‌های پاتوژن انسانی معمولاً در محیط‌های آبی شناسایی می‌شوند و ویروس‌هایی که به خاطر امکان انتقالشان از طریق آب، خطر ایجاد می‌کنند بیشتر از گروه ویروس‌های روده‌ای (Enteric viruses) هستند ولی گروه متنوعی از ویروس‌های فاقد پوشش، می‌توانند در دستگاه گوارش انسان تکثیر شوند و باعث طیف وسیعی از بیماری‌ها مانند بیماری‌های التهابی، بیماری‌های تنفسی، هیپاتیت‌های ویروسی و عفونت دستگاه عصبی مرکزی شوند (۲، ۱۰). مهم‌ترین ویروس‌های روده‌ای ناشی از آب از خانواده‌های کلسی‌ویریده (نورو ویروس)، پیکورناویریده (آنتروویروس و هیپاتیت A) و آدنوویریده هستند (۳). این ویروس‌ها معمولاً به مقدار زیادی از طریق مدفوع (و گاهی با غلظت کمتری از طریق ادرار) مبتلایان دفع می‌شوند. همچنین آن‌ها تقریباً در همه انواع آب مانند فاضلاب، آب دریا، آب شیرین، آب زیرزمینی و آب آشامیدنی و سطحی شناسایی شده‌اند (۴). ویروس‌های پوشش‌دار از نظر ساختار با انتریک ویروس‌ها (فاقد پوشش) متفاوت هستند و در محیط آبی به گونه‌ای دیگر رفتار می‌کنند. این دسته از ویروس‌ها شامل خانواده‌های ارتومیکسوویریده (مثل آنفلوآنزا)، پارامیکسوویریده (measles virus, mumps virus, respiratory syncytial virus)، Herpesviridae، Coronaviridae و چندین ویروس دیگر است. در میان ویروس‌های پوشش‌دار، کرونا ویروس‌ها (CoV) (order: Nidovirales, family:) تک رشته‌ای و حاوی RNA positive-sense هستند (۵، ۶). کروناویروس شامل ۴ جنس است، آلفا، بتا، گاما و دلتا کرونا ویروس که دو نوع اول انسان را بیمار می‌کنند و (HCoV) HCoV-229E و HCoV-NL63 (alphacoronavirus) و HCoV-HKU1 و HCoV-oc43 و MERS-CoV و SARS-CoV-1 (betacoronavirus) از مهم‌ترین‌ها هستند. چندین کرونا ویروس که حیات وحش یا حیوانات خانگی یا دام‌ها را مبتلا

می‌کنند نیز گزارش شده است (۶). HCoV پاتوژن‌های تنفسی هستند و اولین راه انتقال آن‌ها تماس فردی از طریق ذرات تنفسی ناشی از سرفه، تنفس، عطسه و تماس مستقیم با فرد مبتلا و یا غیر مستقیم به واسطه دست یا اشیای حاوی ویروس است. انتقال از طریق آب در انسان هیچ‌گاه نشان داده نشده ولی در نتیجه شناسایی HCoV در مدفوع مبتلایان، ممکن است انتقال مدفوع-دهانی در انتقال HCoV نقش داشته باشد (۷، ۶). در ۲۰۱۹ بیماری تنفسی جدیدی به نام کووید ۱۹ در ووهان چین پدید آمد و شیوع آن باعث اعلام خطر جهانی بهداشت عمومی در ۳۰ ژانویه ۲۰۲۰ شد. نام آن در ۱۱ فوریه کووید ۱۹ تعیین شد و در ۱۱ مارچ وضعیت آن از اپیدمی به پاندمی تغییر یافت. همانند راه‌های انتقال دیگر HCoV ها، راه اصلی انتقال این ویروس هم قطرات تولید شده از سرفه، عطسه، تنفس و تماس است. برخی تحقیقات حضور RNA ویروسی را در مدفوع یا سواب مقعدی مبتلایان گزارش داده‌اند (۸، ۷). شیوع SARS در مارس ۲۰۰۳ در هنگ‌کنگ، که منجر به مرگ صدها نفر گردید به واسطه یک سیستم فاضلاب معیوب حادث شده بود. این واقعیت که SARS-CoV می‌تواند در مجرای روده تکثیر یابد و به عنوان یک عامل پاتوژنی عمل کند (بروز اسهال برابر با ۸ تا ۷۳ درصد در افراد مبتلا به SARS می‌باشد) منجر به نگرانی انتقال محیطی این عامل ویروسی شده است (۹). گر چه راه‌های اصلی انتقال ویروس کووید ۱۹ قطرات آب و تماس مستقیم است ولی بنابر شواهد موجود از SARS و MERS در آلوده‌سازی فاضلاب از طریق زباله‌های انسانی، نمی‌توان انتقال ویروس از طریق مدفوع را نادیده گرفت. در شیوع ویروس سارس در سال ۲۰۰۳، وجود RNA سارس در فاضلاب دو بیمارستان در بیجینگ چین که محل درمان مبتلایان به سارس بود، گزارش شد (۹). ویروس سارس تا ۱۴ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و تا ۲ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در فاضلاب تصفیه نشده دوام می‌آورد. در شرایط کنونی مواجهه با کووید ۱۹، نگرانی‌های مشابهی را پدید آورده است و مرکز کنترل و پیشگیری بیماری آمریکا (CDC) اعلام کرده است که انتقال ویروس کووید ۱۹ از طریق فاضلاب تصفیه نشده

امکان‌پذیر است. تحقیقات اخیر در هلند (۱۰)، امریکا (۱۱) استرالیا (۱۲)، ایتالیا (۱۳) و فرانسه (۱۴) نیز با شناسایی SARS-CoV-2 در فاضلاب، این موضوع را تایید می‌کنند. در صورت تحقق این تحولات، کنترل نرخ انتقال ویروس در جامعه در آینده بسیار دشوار خواهد شد. خطر ابتلا به پاتوژن‌های مربوط به آب مثل *Cryptosporidium*، *Campylobacter*، *Giardia*، *norovirus* و *enterovirus* که منجر به بیماری دستگاه گوارش می‌شوند مورد بررسی قرار گرفته است، خطر ابتلا در کودکان در معرض سیلاب ناشی از سرریز شدن فاضلاب‌ها و روان‌آب تولید شده در اثر باران به ترتیب ۳۳٪ و ۳۱/۵٪ بود. اگرچه برای بزرگسالان میانگین خطر ابتلا ۳/۹٪ و ۰/۳۹٪ و بیشتر مربوط به *norovirus* و *enterovirus*‌های موجود در سیلاب بود. بنابراین هیچ‌گاه نمی‌توان خطر گسترش کووید ۱۹ از طریق فاضلاب آلوده به زباله انسانی را خصوصاً در آب و هوای بارانی ضعیف انگاشت. کرونا اغلب در مدفوع افراد آلوده دفع می‌شود و این می‌تواند باعث افزایش میزان ورود آن به سیستم فاضلاب شود (۶). در ۵ مارس ۲۰۲۰ در جریان تحقیقات در ۵۰ کیلومتری جنوب‌شرقی آمستردام مواد ژنتیکی حاوی ویروس کرونا را در تصفیه‌خانه فاضلاب در آمرفورت کشف شد. از این رو هلند اولین مورد کووید ۱۹ را در فاضلاب تایید کرد (۱۰). سازمان بهداشت جهانی اظهار داشت، ویروس کووید ۱۹ در منابع آب آشامیدنی وجود نداشته است و بر اساس شواهد موجود خطر ابتلای این ویروس به منابع آب کم است (۷). روش‌های سنتی تصفیه آب با استفاده از تصفیه و ضدعفونی باید کووید ۱۹ را غیرفعال کند. نتایج نشان داده‌اند که ویروس به کلرزنی و ضدعفونی توسط اشعه ماوراءبنفش حساس است. یک مطالعه نشان داد که ویروس کووید ۱۹ در آب یا فاضلاب وجود دارد و به‌طور قابل توجهی سریع‌تر از ویروس‌های غیر پاکت‌دار مانند آدنوویروس، نوروویروس، روتاویروس و هپاتیت A غیرفعال می‌شود و یک کورونا ویروس جایگزین انسانی تنها ۲ روز در آب شیر تصفیه نشده و در فاضلاب بیمارستانی با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد زنده مانده است و همچنین نشان داد که غیرفعال کردن ویروس در طی ۱

دقیقه با استفاده از ضدعفونی‌کننده‌های متداول (۷۰٪ اتانول یا هیپوکلریت سدیم) می‌تواند مؤثر باشد (۵). تحقیقات بسیاری در چندین ماه اخیر در بحث حضور کووید ۱۹ در آب و فاضلاب صورت گرفته است که به‌طور خلاصه چند مورد در جدول ۱ آورده شده است. در چندین مطالعه، مدت زمان بقای انواعی از ویروس‌های کرونا در آب آزمایشگاهی، آب دریاچه و فاضلاب یا پساب مورد بررسی قرار گرفته است. ویروس‌های کرونا توانسته‌اند از ۱۰ تا ۲۲ روز در آب زنده بمانند. نوع ویروس کرونا، نوع آب، دما و خاصیت اسیدی آب، مقدار مواد شیمیایی موجود در پساب و حضور سایر میکروارگانیسم‌ها (موجودات ریز زنده) در آب از عوامل تأثیرگذار بر مدت زمان بقای ویروس بودند. علاوه بر این، در پساب‌ها ممکن است مواد آنتی‌ویروس (موادی که باعث از بین رفتن ویروس می‌شوند) وجود داشته باشند و بر زمان بقای ویروس کرونا تأثیرگذار باشند (راهنمای مدیریت آب و فاضلاب، وزارت بهداشت (Ministry of Health)). یک مطالعه نیز نشان داده که کرونا ویروس‌های انسانی فقط دو روز در آب خام فاقد کلر و فاضلاب‌های بیمارستانی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد زنده می‌ماند. سایر مطالعات نیز این موضوع را تأیید می‌کنند. بایستی توجه نمود که کرونا ویروس انسانی به میزان ۹/۹۹٪ از ۲ روز تا ۲ هفته به ترتیب در دمای ۲۳ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد از بین خواهد رفت. افزایش درجه حرارت آب به عنوان یکی از مهم‌ترین و تأثیرگذارترین عوامل کاهش ماندگاری کووید ۱۹ در آب شناخته شده است. به‌طور مشخص، کاهش غلظت ویروس عفونی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مراتب سریع‌تر از کاهش آن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد است (Carcucci et al 2020; La Rosa et al.). عواملی همچون حرارت، pH بالا و پائین، نور خورشید و گندزدهای معمول (مانند کلر) سبب تسریع مرگ ویروس می‌گردد. بقای کرونا ویروس‌های انسانی به‌طور کلی در آب‌هایی با آلودگی میکروبی کاهش و در آب‌های دارای ترکیبات ارگانیک و ذرات معلق جامد افزایش می‌یابد (۱۳). غیرفعال‌سازی کرونا ویروس در آب آشامیدنی فیلتر شده سریع‌تر از آب فیلتر نشده بوده است که نشان می‌دهد مواد

صورت و ماسک باشد. آن‌ها باید نکات بهداشتی را مکرر انجام دهند. و از دست‌زدن به چشم، بینی و دهان خودداری کنند (۱۵)، (۱۴). مطابق توصیه‌های EPA، نیازی به جوشاندن آب‌های آشامیدنی برای در امان ماندن از ویروس کووید ۱۹ نیست. در سایت سازمان حفاظت محیط زیست (EPA) آمده که این سازمان مقررات و الزامات تصفیه، برای سیستم‌های آب عمومی مقرر کرده است که از آلودگی به عوامل بیماری‌زا در آب مانند ویروس‌ها از آلودگی آب آشامیدنی جلوگیری می‌کند. همچنین سازمان حفاظت محیط زیست اعلام نموده است، تا این زمان، هیچ نشانه‌ای مبنی بر وجود کووید ۱۹ در آب آشامیدنی یا تأثیر آن بر تأمین آب وجود نداشته است (۱۵). مقایسه کارایی روش‌های مختلف تغلیظ و بازیابی ویروس نشان داده است که روش ترسیب پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) برای بازیابی ویروس‌های غلاف‌دار بهینه نیست، در حالیکه اولترافیلتراسیون می‌تواند با موفقیت برای بازیابی این ویروس‌ها استفاده شود. با این حال، این روش نیز بازیابی بالایی به دست نمی‌دهد. بسته به نوع ویروس، ماده منعقدکننده و وجود مواد آلی طبیعی، تأثیر ترکیب فرایندهای لخته‌سازی و فیلتراسیون در تصفیه خانه‌ها می‌تواند منجر به کاهش ۱۰ تا ۷۰ درصد ویروس در پساب شود (۱۶).

جامد معلق در آب می‌توانند از ویروس‌های جذب شده به این ذرات محافظت کنند و بنابراین تصفیه پساب تحت فرایند ته نشینی با کاهش ویروس‌های پوشش‌دار در پساب همراه خواهد بود. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی، تاکنون هیچ مدرکی مبنی بر انتقال ویروس کووید ۱۹ از طریق سیستم فاضلاب وجود ندارد. به عنوان بخشی از سیاست یک‌پارچه بهداشت عمومی، کلیه مراحل سیستم تصفیه فاضلاب باید به درستی انجام گردد. هر مرحله از تصفیه منجر به کاهش بیشتر خطر احتمالی می‌شود. در استخر تثبیت (یعنی حوضچه اکسیداسیون) که عموماً یک فناوری تصفیه فاضلاب عملی و ساده تلقی می‌شود (به‌ویژه برای از بین بردن پاتوژن‌ها و عوامل بیماری‌زا)، زمان نگهداری نسبتاً طولانی (یعنی ۲۰ روز یا بیشتر) ترکیب می‌شود. نور خورشید و بالا رفتن pH، در تسریع تخریب فعالیت‌های بیولوژیکی و سایر عوامل پاتوژن مؤثر هستند. اگر تصفیه‌خانه‌های فاضلاب‌های موجود برای از بین رفتن ویروس‌ها بهینه نشده باشد، ممکن است مرحله ضدعفونی نهایی در نظر گرفته شود. بهترین اقدامات برای حفظ سلامت کارگران در مراکز تصفیه بهداشتی باید رعایت شود. کارگران باید از وسایل محافظ شخصی (PPE) مناسب استفاده کنند که شامل: لباس‌های محافظتی، دستکش، چکمه، عینک یا سپر

جدول ۱: بررسی حضور کووید ۱۹ در آب و فاضلاب

نویسنده و تاریخ انتشار	نوع تحقیق	نوع کووید یا جانشین	هدف تحقیق	حجم	نوع نمونه آب	متد غلظت ویروس	متد شناسایی ویروس
Ahmed et al.(2020) (۱۲)	میدانی	SARS-CoV-2	بررسی ویروس در ایستگاه پمپ، بعد از اولین موارد مشاهده شده کووید ۱۹ در استرالیا، تخمین شیوع کووید ۱۹ در منطقه مورد بررسی در فاضلاب	100-200-ml	فاضلاب خام	فرآیند اتوماتیک نمونه برداری ۲۴ ساعته و غلظت بر اساس متدهای مختلف: غشای الکترون‌گاتیو اولترافیلتراسیون (10kDa)	RT-qPCR و توالی یابی

ET-qPCR و infectivity assay onto E6 cell line	نامشخص	فاضلاب در مراحل مختلف تصفیه در حوضچه ضد عفونی: تصفیه نشده، تا حدودی تصفیه شده، تصفیه شده، فاضلاب خام	نامشخص	بررسی ویروس در بیمارستان تعیین شده برای بیماران کووید ۱۹ (سطح، فاضلاب، وسایل محافظ شخصی)	SARS- CoV-2	میدانی	Wang et al. (2020) (۶)
RT-PCR	فرآیند اتوماتیک نمونه برداری ۲۴ ساعته و غلظت با اولترافیلتراسیون (100kDa)	فاضلاب خام	250-ml	برای بررسی ویروس در فاضلاب شهری و فرودگاه شیفرول قبل و بعد از اولین موارد کووید ۱۹	SARS- CoV-2	میدانی	Medema et al.(2020) (۱۷)
و RT-qPCR توالی یابی	دو استراتژی نمونه برداری مختلف (نمونه برداری ۲۴ ساعته دستی و اتوماتیک) و غلظت با اولترافیلتراسیون (10kDa)	فاضلاب خام	500-ml	بررسی ویروس در فاضلاب شهری بعد از اولین موارد کووید ۱۹ در ایالت مونتانا آمریکا برای بررسی منشا فیلوژنتیکی کووید ۱۹	SARS- CoV-2	میدانی	Nemudryi et al. (2020) (۱۸)
و RT-qPCR توالی یابی	فرآیند نمونه برداری ۲۴ ساعته، فیلتراسیون با غشای ۰/۲ میکرومتری و سانتریفیوژ با پلی اتیلن گلیکول ۸۰۰۰	نمونه های فاضلاب هم خام و تصفیه شده	نامشخص	بررسی ویروس در فاضلاب شهری قبل و بعد از اولین موارد کووید ۱۹ در آمریکا (ایالت ماساچوست): برای ارزیابی پایداری ویروس در دمای ۴°C و تخمین شیوع کووید ۱۹ در منطقه تحت بررسی در فاضلاب	SARS- CoV-2	میدانی	Wu et al.(2020) (۱۱)
RT-qPCR	اولتراسانتریفیوژ (جزئیات ارائه نشده)		11-ml	برای بررسی ویروس در تصفیه فاضلاب شهری قبل و بعد از اولین موارد کووید ۱۹ در فرانسه	SARS- CoV-2	میدانی	Wurtzer et al. (2020) (۱۴)

دستورالعمل‌ها و روش‌های آزمایشات ویروس‌شناسی در زمینه آب و فاضلاب

بررسی حضور ویروس در فاضلاب مناطق پر جمعیت از یک
شهر یا کشور مانند مناطق مسکونی شلوغ، بیمارستان‌ها،
خوابگاه‌ها، فرودگاه‌ها و غیره می‌تواند احتمال زنگ خطری بر

قرمز شدن آن منطقه باشد، بنابراین می‌توان تعیین ویروس در
آب و یا فاضلاب را به‌عنوان نقطه اولیه در جنگ علیه ویروس
نیز در نظر گرفت و می‌تواند بینش خوبی به برنامه‌ریزان حوزه
سلامت و بهداشت عمومی ارائه کند. ویروس‌شناسی آب در
حدود نیم قرن قبل با کوشش دانشمندان برای مشاهده

تشخیص حتی بر روی نمونه‌های فاضلاب نیز صورت گیرد. فیلترهای موجود پتانسیل استفاده برای جداسازی این ویروس از فاضلاب را دارند، اگر چه روش‌های نوینی همچون اولترافیلتراسیون، ترسیب PEG و جذب غشایی الکتروناتیوی با استخراج مستقیم RNA برای ارزیابی نمونه‌های فاضلاب نیز موفق بوده‌اند. یکی از فاکتورهای مهم در تغلیظ نمونه‌ها، حجم آن‌هاست که معمولاً در حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر برای فاضلاب خام است که البته در مناطق با شیوع اندک کووید ۱۹ لازم است بر روی حجم‌های بیشتری از فاضلاب خام تغلیظ صورت گیرد (۲۱، ۲۰). سه روش را برای جداسازی و تغلیظ ویروس از بخش مایع فاضلاب شهری پیشنهاد داد: الف) رسوب با PEG ب) اولتراسانتریفیوژ (ج) اولترافیلتراسیون به همراه سانتریفیوژ فاضلاب (۲۵۰ میلی‌لیتر برای PEG و اولترافیلتراسیون و ۶۰ میلی‌لیتر برای اولتراسانتریفیوژ) با کرونا ویروس جوندگان (MHV) و فاژ بدون پوشش MS2 آلوده شد. بازیابی کمی با روش اولتراسانتریفیوژ از این دو ویروس به دست آمد (حدوداً ۵ درصد). این نتیجه احتمالاً با غیرفعال شدن ویروس در سانتریفیوژ با نیروی بالا مربوط می‌باشد. بازیابی MHV با روش رسوب PEG که عملکردش برای MS2 بسیار بالا بود (۴۳/۱ درصد)، بسیار کم بود (حدود ۵ درصد). در نهایت فرآیند اولترافیلتراسیون بهینه‌سازی شده که در تحقیق از آن استفاده شده، بیشترین بازیابی را برای هر دو ویروس به ارمغان آورد (۲۵/۱ درصد برای MHV و ۵۵/۶ درصد برای فاژ MS2). تحقیق Ye و همکاران نشان داد که روش رسوب PEG که برای بازیابی ویروس‌های بدون پوشش از نمونه‌های آب موثر است، ممکن است برای بازیابی ویروس‌های پوشش‌دار عفونی بهینه نباشد در حالی‌که اولترافیلتراسیون می‌تواند به طور موفقیت آمیزی برای بازیابی کووید ۱۹ استفاده شود. اگرچه در این تحقیق فقط حجم‌های کم فاضلاب با استفاده از اولترافیلترهای سانتریفیوژی آزمایش شد. از آن جایی که ویروس‌های موجود در آب ممکن است به تعداد کم حضور داشته باشند، به روش‌های آنالیزی مناسب برای حجم‌های زیاد آب نیاز است (۲۰). عبدالمقصود و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر فیلتراسیون پشم

پولیوویروس در نمونه‌های آب شروع شد. از آن زمان تاکنون، سایر ویروس‌های روده‌ای مسئول گاستروانتریت و هپاتیت جایگزین انتروویروس‌ها به عنوان عامل عمده برای مشاهده ویروس در آب محیطی شده‌اند. پس از شیوع سارس در سال ۲۰۰۳، وانگ تحقیقی برای ارزیابی بازیابی سارس از فاضلاب آلوده و هم‌چنین یک ویروس جانشین (باکتریوفاژ f2) انجام داد. فرآیند تغلیظ، استفاده فیلتر با بار مثبت (سیلیکاژل همراه با آلوم) را استفاده کرده، فاضلاب بیمارستان و فاضلاب خانگی (۱۰۰ میلی‌لیتر) به سارس و فاژ f2 آلوده شدند و از ستون شیشه‌ای عبور داده شدند و از محیط فیلتر با نوترینت برات ۳ غلظتی با pH برابر ۷/۲ شسته شدند و سپس با PEG رسوب داده شد. فرآیند بازیابی‌هایی ویروسی متغیر از ۰ درصد (فاضلاب خانگی) تا ۲۱/۴ درصد (فاضلاب بیمارستان) را نشان داد (که میانگین آن‌ها ۱/۰۲ درصد بود). بازیابی فاژ f2 در شرایط مشابه بسیار بیشتر بود (از ۳۳/۶ درصد تا بیش از ۱۰۰ درصد). بنابراین این روش به‌نظر بیشتر مناسب تغلیظ ویروس‌های پوشش‌دار است (۱۹، ۵). اکثر مطالعات انجام شده برای تغلیظ ویروس‌های بدون پوشش مثل هپاتیت آ و به کمک ویروس‌های قابل کشت و باکتریوفاژها به عنوان مدل بوده است. برای تغلیظ ویروس‌های روده‌ای (از نمونه فاضلاب) از غشاهای الکتروناتیو و الکتروپازتیو استفاده می‌شود. بر مبنای روابط الکترواستاتیکی موجود بین ویروس‌ها و فیلترها و چون ویروس‌ها دارای بار الکترواستاتیکی منفی (در PH خنثی) هستند، از این فیلترها استفاده می‌شود. در این روش ویروس‌های باردار شده با بار منفی به فیلتر الکتروپازتیو متصل می‌شوند. روش دیگری که برای تغلیظ ویروس‌ها استفاده می‌شود اولترافیلتراسیون است که بر مبنای تفکیک ویروس‌ها بر حسب اندازه آن‌ها است. روش‌های مرسوم دیگری هم از جمله ترسیب پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) و اولتراسانتریفیوژ وجود دارند. مطالعات محدودی برای تغلیظ ویروس‌های پوشش‌دار انجام شده است و این نوع ویروس‌ها بیشتر بر روی بخش‌های جامد فاضلاب قرار می‌گیرند. در هر گرم مدفوع مبتلایان به کووید ۱۹ حدود 10^8 RNA ویروس است که در نتیجه باید تغلیظ ویروس، قبل از

آنتیژن‌های خاص ویروس مانند پروتئین‌های کپسید انجام می‌شود که البته استفاده از روش‌های مولکولی گران قیمت است. البته اخیراً دانشمندان به دنبال استفاده از بیومارکرهای دیگر در آزمون ویروس‌ها در فاضلاب هستند که تشخیص را سریع‌تر و اقتصادی‌تر نماید. یکی دیگر از روش‌های تشخیص زودهنگام شیوع کووید ۱۹ (WBE wastewater-based epidemiology) می‌باشد که به بررسی اطلاعات شیمیایی و بیولوژیکی منابع آبی به خصوص فاضلاب گفته می‌شود. با توجه به حضور این ویروس تنها پس از ۳ روز در نمونه ادرار مبتلایان در مقایسه با حضور علائم بالینی که ممکن است تا ۱۴ روز به طول بینجامد، روش بسیار مناسبی برای ارزیابی میزان آلودگی (نه فقط کووید ۱۹) یک منطقه مسکونی است تا مسئولین بهداشتی تصمیمات لازم را اتخاذ کنند. این روش چالش‌هایی را نیز در بر دارد که می‌توان با راهکارهای ارائه شده با آن‌ها مقابله کرد:

۱- منابع آب ممکن است به علت ورود آب باران به فاضلاب رقیق شوند و مهم‌ترین فاکتوری که باید در نظر گرفته شود نرخ جریان فاضلاب است. به همین دلیل غلظت زیست شناساگرهای مختلف بر مبنای بار روزانه در فاضلاب گزارش می‌شوند (ng/day). برای ایجاد امکان مقایسه بین شهری غلظت زیست شناساگرها بر اساس بار روزانه به ازای هر نفر ارائه می‌شود (mg/day/capita).

۲- به علت حضور ترکیبات بسیار گسترده در فاضلاب، وجود روش استخراج و شناسایی دقیق زیست شناساگرها لازم می‌باشد. ۳- یکی دیگر از چالش‌ها تفاوت جمعیت شهرهای بزرگ در طول روز است که می‌توان با استفاده از داده‌های آماری مناطق شهری به این مشکل هم غلبه کرد. یک راه حل دیگر نیز استفاده از روش‌ها و اطلاعات هیدروشیمیایی که در تحقیقات گسترده‌ای برای تخمین جمعیت یک منطقه مورد استفاده قرار گرفته است، می‌باشد.

چگونگی بررسی حضور کرونا ویروس در آب و فاضلاب

برای بررسی ویروس کرونا در آب ابتدا باید یک نمونه‌گیری درست طبق استانداردهای موجود انجام شود و پس از تغلیظ و رسوب‌دهی، در ادامه تست‌های شناسایی گذارده و نتایج گزارش

شیشه را سنجیدند تا همزمان گستره وسیعی از ویروس‌های ناشی از آب و پاتوژن‌های باکتریایی که معمولاً در رواناب‌های زمین‌های کشاورزی که از کود لینی به عنوان کود استفاده می‌کنند پیدا می‌شوند را، تغلیظ کنند. نتایج نشان داد که فیلتراسیون پشم شیشه روشی با صرفه اقتصادی برای تغلیظ چندین پاتوژن ناشی از آب به طور همزمان، می‌باشد (۲۲). بلانکو (۲۰۱۹) از جذب با پشم شیشه استفاده کرد و سپس با بافر بازی شست‌وشو داد و بعد تغلیظ ثانویه‌ای را به کمک رسوب PEG 6000 انجام داد. ویروس‌هایی که برای آزمایش‌ها استفاده شدند هیپاتیت A (فاقد پوشش) و TGEV پوشش‌دار بودند. مقادیر زیادی از آب (۵ لیتر و ۵۰ لیتر) برای بهینه‌سازی روش و تعیین خصوصیات عملکرد استفاده شد. چندین مرحله از فرآیند شست‌وشو در مقایسه با دیگر پروتکل‌های پشم شیشه منتشر شده اصلاح شد تا بازیابی TGEV بهبود پیدا کند و بازیابی ویروس با RT qPCR معلوم گشت. بازیابی آزمایش‌های اولیه (۵ لیتر آب، جذب به ماتریس پشم شیشه باردار با بار مثبت، شسته شدن با بافر عصاره گوشت گاو و گلاسیسین با pH ۹/۵ و تماس به مدت ۱۰ دقیقه) نشان داد که TGEV به خوبی به پشم شیشه جذب شده (۵۷/۱ درصد اتصال) ولی بسیار ضعیف از آن شسته شده، با بازیابی کلی ۲/۶ درصد. افزایش pH بافر به ۱۱ بهبود قابل ملاحظه‌ای به بازدهی شست و شو داد، و بازیابی نهایی با ۲۸/۸٪ حاصل شد (۲۳). متعاقباً آزمایش‌هایی برای تغلیظ HAV و TGEV از ۵۰ لیتر نمونه آب آلوده همگی با استفاده از PH بافر ۱۱ انجام شدند. نتایج نشان داد که اضافه کردن Tween 80 مانع بازیابی TGEV شد، احتمالاً بخاطر از بین بردن لیپید حاوی پوشش ویروس باشد. در کل تحقیق انجام شده توسط برانکو، به‌طور واضح نشان داد که فرآیندهای معمول تغلیظی مورد استفاده برای ویروس‌های بدون پوشش به تطبیق‌هایی برای حصول بازده راضی کننده در عمل برای ویروس‌های پوشش‌دار مثل کووید نیاز دارد. تشخیص بیماری تنفسی کووید ۱۹ و ویروس کرونای جدید همراه آن با استفاده از آزمون‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)، آزمایش اسیدنوکلئیک و کیت‌های آزمایش الیزا جهت بررسی حضور

یا منهای ۸۰ برای ادامه کار ذخیره می‌گردد. در مرحله بعد استخراج RNA با کیت‌های مخصوص صورت گرفته و نمونه استخراج شده در منهای ۸۰ ذخیره می‌گردد.

(ج) شناسایی و تعیین ویروس کرونا: در حال حاضر شناسایی ویروس کووید ۱۹ عمدتاً وابسته به RT-qPCR یا RT-PCR (آشپانه‌ای) است. محققین سه تست TaqMan qPCR که ژن‌های RNA پلیمرز وابسته به RNA (RdRp)، پوشش (E)، و پروتئین نوکلئوکپسید (N) را هدف قرار می‌دهند به همراه حد تشخیص (LOD: Limit of detection) به ترتیب برابر با ۳/۸، ۵/۲ و ۸/۳ کپی‌های RNA در هر واکنش را ایجاد کرده‌اند (۲۴). تست ژن RdRp به روش RT-qPCR از دو پروب فلئورسنت برای تشخیص ویروس کووید ۱۹ از کرونا ویروس سارس و کرونا ویروس مرتبط با سارس خفاشی استفاده می‌کند، در حالیکه تست ژن E به روش RT-qPCR می‌تواند با هر دو ویروس کووید ۱۹ و کرونا ویروس سارس واکنش دهد. عملکرد تست ژن N به روش RT-qPCR به دلیل LOD نسبتاً بالاتر آن در مقایسه با دو تست دیگر با جزئیات مورد بررسی قرار نگرفته است. در مقابل گزارش گردید که میان این سه تست، تنها تست ژن N به روش RT-qPCR که مخصوص کووید ۱۹ بوده، تحت الگوی RT-qPCR آن‌ها به‌خوبی عمل کرد. ژن پروتئین N پرکاربردترین ژن در هدف قرار گرفتن برای توسعه تست RT-qPCR است. در تحقیقات انجام گرفته، تست ژن N به روش RT-qPCR قادر به شناسایی حداقل ۵ کپی RNA در هر واکنش بوده است (۲۶، ۲۵، ۱۷).

نتیجه‌گیری

در مطالعات مربوط به زنده‌مانی ویروس‌ها در محیط‌های آبی، مقاومت متغیری بسته به نوع ویروس، نمونه آب، و دما مشاهده شده است. تحقیقات نشان می‌دهد که در دمای اتاق میزان عفونت‌زایی ویروس سارس در نمونه آب استریلیزه که در ابتدا حاوی تیترو ویروس برابر با TCID₅₀ ۱۰^۶ است، در طی ۳ تا ۴ روز تا سطح غیرقابل شناسایی کاهش می‌یابد. مقاومت ویروس سارس عفونی طی دو روز در دمای ۲۰ درجه

شود. توسعه روش‌های مولکولی مانند تکثیر PCR ویروس‌ها به‌وسیله روش‌های انتخابی بوده که مشاهده ویروس‌های مهم در پزشکی را مقدور ساخته است.

الف) نمونه‌گیری

بر اساس استاندارد ملی ایران، نمونه‌گیری از آب شامل سه دستور کار برای جمع‌آوری نمونه هاست:

روش الف- برای جمع‌آوری نمونه لحظه‌ای، از یک محل به خصوص می‌باشد که فقط معرف خصوصیات آب در زمان نمونه‌گیری است و این روش برای آزمون‌های باکتریولوژی و برخی آزمون‌های رادیولوژی مناسب می‌باشد.

روش ب- برای جمع‌آوری نمونه مرکب از یک محل به خصوص می‌باشد که قسمت‌های نمونه در فواصل زمانی مختلف گردآوری می‌شود نمونه مرکب می‌تواند از جمع‌آوری مقادیر آب از مکان‌های مختلف یک منبع و یا مجموعه‌ای از آب گردآوری شده از محل‌های مختلف در زمان‌های مختلف تشکیل گردد.

روش ج- یک نمونه‌گیری مداوم یا پیوسته از یک و یا چند ایستگاه نمونه‌گیری ایجاد می‌گردد که برای دستگاه‌های تجزیه مداوم آب مناسب می‌باشد. (استاندارد ملی ایران شماره ۴۲۰۸)

ب) تغلیظ و استخراج RNA

حدود یک لیتر فاضلاب تازه را در مرحله تغلیظ اولیه با دور پایین سانتریفیوژ نموده تا ذرات اضافی حذف و ته نشین شود. در مرحله تغلیظ ثانویه می‌توان از PEG و یا آلوم (زاج) و یا اولترافیلتراسیون برای ته نشینی استفاده شود که همراه با یک سانتریفیوژ مختصر می‌باشد. مخلوط ته نشین شده سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکر دار با دور ۱۰۰ دور در دقیقه برای ۱۲ ساعت انکوبه می‌گردد. سپس در ۱۴۰۰۰ g به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده تا ذرات ویروس تجمع یابد. ذرات سپس در نمک بافر فسفات (PBS) دوباره تعلیق شود. فاز آبی (حاوی ذرات ویروس) از طریق فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر جمع‌آوری و فیلتر شوند. این مرحله می‌تواند با استفاده از یک اولتراسانتریفیوژ ادامه یابد و در نهایت نمونه غلیظ شده در یک میلی‌لیتر بافر در منهای ۲۰

ظهور دوباره کووید ۱۹ در شهرها باشد. شناسایی ویروس در فاضلاب حتی اگر شیوع کووید ۱۹ کم باشد، نشان می‌دهد که نظارت بر فاضلاب می‌تواند راهی برای نظارت بر گردش ویروس در جامعه باشد. ایزولاسیون چاه‌های فاضلاب و به‌طور کلی مراقبت از ورود آب‌های حاوی ویروس به منابع آب در کنترل ویروس سهم بسزایی خواهند داشت. برخلاف نمونه‌های پزشکی، زمانی که ویروس کووید ۱۹ در نمونه‌های فاضلاب با غلظت اندک ویروس (به دلیل رقیق‌سازی و شیوع کم ویروس) آزمایش می‌شود، LOD پایین‌تری لازم است. متأسفانه برای بسیاری از تست‌های RT-qPCR انجام شده بر روی نمونه‌های فاضلاب داده‌ای در مورد LOD در دسترس نیست. به نظر می‌رسد تست‌های RT-qPCR مقدار LOD کمتر از ده کپی به ازای هر واکنش در نمونه‌های فاضلاب را نشان دهند. در این مقاله، مقالات اخیر درباره امکان حضور و انتقال انواع ویروس‌ها به ویژه کرونا ویروس‌ها (SARS-CoV-2)، از طریق فاضلاب و همچنین انواع روش‌های موجود برای استخراج RNA ویروسی و شناسایی آن در نمونه‌های گرفته شده از فاضلاب مورد بررسی و تحلیل قرار گرفته است و انواع روش‌ها برای تغلیظ نمونه‌های ویروسی برای یافتن بهترین روش استفاده شده برای تغلیظ کووید ۱۹ نیز بررسی شده است.

حامی مالی: دانشگاه یزد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

سانتی‌گراد در تمام نمونه‌های آبی (از جمله فاضلاب بیمارستان، فاضلاب خانگی و آب شرب) کاهش یافته است اما در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد این مقدار به ۱۴ روز افزایش می‌یابد. اگر چه مطالعات انجام گرفته در این زمینه به‌صورت تفکیکی بوده‌اند و نتایج آن‌ها به‌طور مستقیم قابل مقایسه با یکدیگر نیست، اما نشان می‌دهند که کرونا ویروس انسانی نسبت به ویروس‌های بدون پوشش در محیط‌های آبی پایداری کمتری دارند و زنده‌مانی آن‌ها در آب‌های حاوی آلودگی آلی و میکروبی به‌طور کل کاهش می‌یابد و غیرفعال شدن ویروس با افزایش دما، افزایش پیدا می‌کند. در کنار تمام مزیت‌های رویکرد WBE، چالش‌هایی نیز در این رابطه مطرح است. به‌دلیل تغییرات گسترده در جریان ورودی فاضلاب (برای مثال آب باران که ممکن است باعث رقیق‌سازی فاضلاب شود)، نرخ جریان فاضلاب مهم‌ترین فاکتوری است که در WBE باید مورد توجه قرار گیرد. بر این اساس میزان غلظت زیست‌نشانگرهای مختلف معمولاً بر مبنای بار روزانه در فاضلاب (ng/day) گزارش می‌شود. از طرفی دیگر برای نرمالیزه کردن داده‌ها و ایجاد امکان مقایسه میان شهرهای مختلف با جمعیت‌های متفاوت، غلظت زیست‌نشانگرها بر اساس بار روزانه به ازای هر نفر (mg/day/capita) گزارش می‌گردد. یکی دیگر از چالش‌های این روش حضور ترکیبات بسیار گسترده در فاضلاب است که وجود روش‌های استخراج و شناسایی دقیق زیست‌نشانگر مورد نظر را الزامی می‌کند. نظارت بر فاضلاب می‌تواند به عنوان هشدار اولیه

References:

- 1-Bibby K, Peccia J. *Identification of Viral Pathogen Diversity in Sewage Sludge by Metagenome Analysis*. *Environ. Environ Sci Technol* 2013; 47(4): 1945-51.
- 2-Bosch A. *Human Enteric Viruses in the Water Environment: A Minireview*. *Int Microbiol* 1998; 1(3): 191-6.
- 3-Caputo A, Tomai M A. *Systematic Review of Psychodynamic Theories in Community Psychology: Discovering the Unconscious in Community Work*. *J Community Psychol* 2020; 48(6): 2069–2085.
- 4-Santos R, Monteiro S. *Epidemiology, Control, and Prevention of Emerging Zoonotic Viruses*. *Viruses in Food and Water* 2013; 442-57.

- 5-Wang XW, Li JS, Zhen B, Kong QX, Song N, Xiao WJ, et al. *Study on the Resistance of Severe Acute Respiratory Syndrome-Associated Coronavirus*. J Viral Methods 2005; 126: 171-7.
- 6-Wang, J, Feng H, Zhang S, Ni Z, Ni L, Chen Y, et al. *SARS-Cov-2 RNA Detection of Hospital Isolation Wards Hygiene Monitoring During the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in a Chinese Hospital*. Int J Infect Dis 2020; 94: 103-6.
- 7-Slekiene J, Mosler HJ. *The Link Between Mental Health and Safe Drinking Water Behaviors in a Vulnerable Population in Rural Malawi*. BMC Psychol 2019; 7(1): 44.
- 8-Schwarte KA, Russell JR, Kovar JL, Morriscal DG, Ensley SM, Yoon KJ, et al. *Grazing Management Effects on Sediment, Phosphorus, and Pathogen Loading of Streams in Cool-Season Grass Pastures*. J Environ Qual 2011; 40(4): 1303-13.
- 9-Haramoto E, Kitajima M, Hata A, Torrey JR, Masago Y, Sano D, et al. *A Review on Recent Progress in the Detection Methods and Prevalence of Human Enteric Viruses in Water*. Water Research 2018; 135: 168-86.
- 10-Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R, Brouwer A. *Presence of Sarscoronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in the Netherlands*. Environ Sci Technol Lett 2020; 7: 7.
- 11-Wu F, Xiao A, Zhang J, Gu X, Lee WL, Kauffman K, et al. *SARS-Cov-2 Titers in Wastewater are Higher than Expected From Clinically Confirmed Cases*. Medrxiv 2020; 5(4): 140-20.
- 12-Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. *First Confirmed Detection of SARS-Cov-2 in Untreated Wastewater in Australia: A Proof of Concept for the Wastewater Surveillance of COVID-19 in the Community*. Sci Total Environ 2020; 728: E 138764.
- 13-La Rosa G, Fratini M, Della Libera S, Iaconelli M, Muscillo M. *Emerging and Potentially Emerging Viruses in Water Environments*. Ann Ist Super Sanita 2020; 48(4): 397-406.
- 14-Mumbi AW, Watanabe T. *Differences in Risk Perception of Water Quality and Its Influencing Factors between Lay People and Factory Workers for Water Management in River Sosiani, Eldoret Municipality Kenya*. Water 2020; 12(8): 2248.
- 15-Hovden L, Paasche T, Nyanza EC, Bastien S. *Water Scarcity and Water Quality: Identifying Potential Unintended Harms and Mitigation Strategies in the Implementation of the Biosand Filter in Rural Tanzania*. Qual Health Res 2020; 30(11): 1647-1661.
- 16-Carducci A, Federigi I, Liu D, Thompson JR, Verani M. *Making Waves: Coronavirus Detection, Presence and Persistence in the Water Environment: State of the Art and Knowledge Needs for Public Health*. Water Res 2020; 179: 115907.
- 17-Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R, Brouwer A. *Presence of SARS-Coronavirus-2 in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in the Netherlands*. Environ Sci Technol Lett 2020; 7(7): 511-516.
- 18-Nemudryi A, Nemudraia K, Surya T, Wiegand M, Buyukyoruk R, Wilkinson, et al. *Temporal Detection and Phylogenetic Assessment of SARS-Cov-2 in Municipal Wastewater*. Cell Reports Medicine 2020; 1(6): 100098.

- 19-Kitajima M, Ahmed W, Bibby K, Carducci A, Gerba CP, Hamilton KA, Haramoto E, Rose JB. *SARS-Cov-2 in Wastewater: State of the Knowledge and Research Needs*. Science of the Total Environment 2020; 739: 139076.
- 20-Ye Y, Ellenberg RM, Graham KE, Wigginton KR. *Survivability, Partitioning, and Recovery of Enveloped Viruses in Untreated Municipal Wastewater*. Environ Sci Technol 2016; 50: 5077-85.
- 21-Mirbagheri M, Nahvi I, Emamzadeh R, Emtiazi G, Shirani E. *Oil Wastes Management: Medium Optimization for the Production of Alpha-Linolenic Acid in Mucor Circinelloides*. Int J Environ Sci Technol 2016; 13(1): 31-3.
- 22-Abd-Elmaksoud S, Spencer SK, Gerba CP, Tamimi AH, Jokela WE, Borchardt MA. *Simultaneous Concentration of Bovine Viruses and Agricultural Zoonotic Bacteria from Water Using Sodocalcic Glass Wool filters*. Food Environ. Virol 2014; 6(4): 253-59.
- 23-Blanco A, Abid I, Al-Otaibi N, Perez-Rodríguez FJ, Fuentes C, Guix S, et al. *Glass Wool Concentration Optimization for the Detection of Enveloped and Non-Enveloped Waterborne Viruses*. Food Environ Virol 2019; 11(2): 184-92.
- 24-Mafakher L, Mirbagheri M, Nahvi I, Emtiazi G, Darvishi F, Zarkesh Esfahani H. *Isolation of Lipase and Citric Acid Producing Yeasts from Agro-Industrial Wastewater*. N Biotechnol 2010 27(4): 337-40.
- 25-Mirbagheri M, Nahvi I, Emtiazi G, Darvishi F, Mafakher L. *Taxonomic Characterization and Biotechnological Potential Applications of Yeast Yarrowia Lipolytica Isolated from Meat and its Products*. Jundishapur J Microbiol 2012; 5(1): 346-51.
- 26-Holshue M L, DeBolt C, Lindquist S, Lofy K H, Wiesman J, Bruce H, et al. *First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States*. N Engl J Med 2020; 382(10): 929-36.

Investigation of Coronaviruses (COVID 19) in Water and Wastewater

Maryam Sadat Mirbagheri Firoozabad^{†1}, Kiarash Sadeghian Esfahani¹

Review Article

Introduction: Water can be a carrier environment for pathogens or provide the conditions for the spread of a disease or various infectious cases. Covid-19 outbreak was declared a pandemic by the World Health Organization on 12 March 2020. The main routes of transmission of the virus are through droplet and individual transmission, although recent research confirms the presence of viral RNA in wastewater and thus, further studies on wastewater as a possible source of virus transmission are needed to understand the epidemiology of the virus and methods for its diagnosis and quantification. The presence of the sewage virus could be a warning sign for the re-emergence of Covid 19 in cities. Isolation of sewage wells and in general, care for the entry of water containing virus into water sources will play an important role in controlling the virus. This article reviewed recent articles on the possibility of the presence and transmission of viruses, especially coronaviruses (SARS-CoV-2), through wastewater, as well as the various methods available for extracting viral RNA and identifying it in wastewater samples. A variety of methods for concentrating viral samples has also been examined to find the best method used to concentrate Covid 19.

Conclusion: Detection of virus in sewage, even if the prevalence of Covid 19 is low, it indicates that sewage monitoring can be a way to monitor the circulation of the virus in the community.

Keywords: Water, Wastewater, Detection, Coronavirus, COVID 19

Citation: Mirbagheri Firoozabad M.S, Sadeghian Esfahani K. **Investigation of Coronaviruses (COVID 19) in Water and Wastewater.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 29(12): 4332-43

^{†1}Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.

*Corresponding author: Tel: 03531232293, email: javdani59@gmail.com