

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

مریم السادات میرباقری فیروزآباد<sup>\*</sup>، کیارش صادقیان اصفهانی<sup>۱</sup>

## مقاله مروري

**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 ابیدمیولوژی 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 به‌طورکلی مراقبت از ورود آبهای حاوی ویروس به منابع آب در کنترل ویروس سهم بسزایی خواهد داشت. در این مقاله مروري 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 تغليظ نمونه‌های ویروسی برای یافتن بهترین روش استفاده شده برای تغليظ کووید ۱۹ نيز 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. مروري بر بررسی حضور کرونا ویروس(کووید ۱۹) در آب و فاضلاب. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. ۱۴۰۰؛ ۱۲(۲۹): ۴۳۲-۴۳.

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

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

## مقدمه

## مشاهدات ویروس کرونا در آب یا فاضلاب

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). 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 HCoV‌ها، 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 (۷،۸). 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). گرچه 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

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، هپاتیت‌های ویروسی و عفونت دستگاه عصبی مرکزی شوند (۱، ۲). مهم‌ترین ویروس‌های روده‌ای ناشی از آب از خانواده‌های کلسی‌ویریده (نورو ویروس)، پیکورناویریده (آنتروویروس و هپاتیت 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، measles virus, mumps virus, respiratory syncytial virus و Coronaviridae، Herpesviridae، syncytial virus و چندین order: Nidovirales، family: (CoV) ویروس‌های (Coronaviridae، subfamily: Coronavirinae تک رشته‌ای و حاوی RNA و حاوی positive-sense RNA هستند (۵، ۶). کرونانوویرینه شامل ۴ جنس است، آلفا، بتا، گاما و دلتا کرونا ویروس که دو نوع اول انسان را بیمار می‌کنند و (HCoV) (alphacoronavirus) HCoV-NL63 و HCoV-229E و SARS-CoV و HCoV-oc43 و HCoV-HKU1 و MERS-CoV (betacoronavirus) CoV ویروس که حیات وحش یا حیوانات خانگی یا دامها را مبتلا

دقیقه با استفاده از ضدغونی‌کننده‌های 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 به طور 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 میکرووارگانیسم‌ها (موجودات ریز زنده) در آب از عوامل تأثیرگذار بر مدت زمان بقای ویروس‌ها 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 تائید می‌کنند. باستی توجه نمود که کرونا ویروس انسانی به میزان 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. به طور مشخص، کاهش غلظت ویروس عفونی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مراتب سریع‌تر از کاهش آن در دمای ۴ درجه (Carcucci et al., 2020; La Rosa et al., 2020) سانتی‌گراد است.

عواملی همچون حرارت، pH بالا و پائین، نور خورشید و گندزهای معمول (مانند کلر) سبب تسریع مرگ ویروس می‌گردند. بقای کرونا ویروس‌های انسانی به طور 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

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 ۳٪ بود. اگرچه برای بزرگسالان میانگین خطر ابتلا ۳٪ و ۰٪ و بیشتر مربوط به *norovirus* و *enterovirus* 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 مدفع 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 آمرسفورت 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 ضدغونی باید کووید ۱۹ را غیرفعال کند. نتایج نشان داده‌اند که ویروس به کلرزنی و ضدغونی توسط اشعه ماوراءبنفسنجاق ویروس و هپاتیت A غیرفعال می‌شود و یک کرونا ویروس روتاویروس و هپاتیت A غیرفعال می‌شود و یک کرونا 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

صورت و ماسک باشد. آن‌ها باید نکات بهداشتی را مکرر انجام دهند. و از دست‌زدن به چشم، بینی و دهان خودداری کنند (۱۵). 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 تغییض 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 آبی 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 ثبتیت (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 تسريع تخریب فعالیت‌های بیولوژیکی و سایر عوامل پاتوژن مؤثر هستند. اگر تصفیه‌خانه‌های فاضلاب‌های موجود برای از بین رفتن ویروس‌ها بهینه نشده باشد، ممکن است مرحله ضدغوفونی نهایی در نظر گرفته شود. بهترین اقدامات برای حفظ سلامت کارگران در مراکز تصفیه بهداشتی باید رعایت شود. کارگران باید از وسایل محافظت شخصی (PPE) مناسب استفاده کنند که شامل: لباس‌های محافظتی، دستکش، چکمه، عینک یا سپر

جدول ۱: بررسی حضور کووید ۱۹ در آب و فاضلاب

نوسنده و تاریخ انتشار	نوع کووید تحقیق	هدف تحقیق	نوع نمونه آب	حجم	طرایی تحقیق	متدهای غلط ویروس	متدهای شناسایی ویروس	
Ahmed et al.(2020) (۱۲)	SARS-CoV-2 میدانی	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	فاضلاب خام	۱۰۰-۲۰۰ ml	فرآیند اتوماتیک نمونه برداشی ۲۴ ساعته و توالی یابی غلط بر اساس متدهای مختلف: غشای الکترونگاتیو اولترافیلتراسیون (10kDa)	RT-qPCR و توالی یابی		

## حضور کووید ۱۹ در آب و فاضلاب

ET-qPCR infectivity and assay onto E6 cell line	فاضلاب در مراحل مختلف تصفیه در حوضچه ضد عفونی: تصفیه نshedه، 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 شیفول 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 منشأ فیلورزتیکی 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 گلایکول ۸۰۰۰	نمونه های فاضلاب هم خام و تصفیه شدہ	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)

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

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

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 الکترونگاتیو با استخراج مستقیم RNA برای ارزیابی نمونه‌های فاضلاب نیز موفق بوده‌اند. یکی از فاکتورهای مهم در تغییض 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 تغییض صورت گیرد (۲۰، ۲۱). سه روش را برای جداسازی و تغییض 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 فاز بدون پوشش MS2 آلووده 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 (۱/۴۳) 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 ارمنان آورد (MS2/۱۱ درصد برای MHV و ۶/۵۵ درصد برای فاز 2). تحقیق  $\text{Y}^{90}$  و همکاران نشان داد که روش رسوب PEG که برای بازیابی ویروس‌های بدون پوشش دار عفونی بهینه ممکن است برای بازیابی ویروس‌های پوشش دار عفونی بهینه نباشد در حالی که 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). عبدالمحضود و همکاران (۱۴/۲۰) تأثیر فیلتراسیون پشم

پولیوویروس در نمونه‌های آب شروع شد. از آن زمان تاکنون، سایر ویروس‌های روده‌ای مسئول گاستروانتریت و هپاتیت جایگزین انتروویروس‌ها به عنوان عامل عمدی برای مشاهده ویروس در آب محیطی شده‌اند. پس از شیوع سارس در سال ۲۰۰۳، وانگ تحقیقی برای ارزیابی بازیابی سارس از فاضلاب آلووده و همچنین یک ویروس جانشین (باکتریوفاژ f2) انجام داد. فرآیند تغییض، استفاده فیلتر با بار مثبت (سیلیکاژل همراه با آلوم) را استفاده کرده، فاضلاب بیمارستان و فاضلاب خانگی (۱۰۰ میلی‌لیتر) به سارس و فاز f2 آلووده شدند و از ستون شیشه‌ای عبور داده شدند و از محیط فیلتر با نوترینت براز ۳ غلاظتی با pH ۷/۲ شسته شدند و سپس با PEG رسوب داده شد. فرآیند بازیابی‌هایی ویروسی متغیر از ۰ درصد (فاضلاب خانگی) تا ۴/۲۱ درصد (فاضلاب بیمارستان) را نشان داد (که میانگین آن‌ها ۰/۰۲۱ درصد بود). بازیابی فاز f2 در شرایط مشابه بسیار بیشتر بود (از ۶/۳۳ درصد تا بیش از ۱۰۰ درصد). بنابراین این روش به نظر بیشتر مناسب تغییض ویروس‌های پوشش‌دار است (۵، ۱۹). اکثر مطالعات انجام شده برای تغییض ویروس‌های بدون پوشش مثل هپاتیت آ و به کمک ویروس‌های قابل کشت و باکتریوفاژها به عنوان مدل بوده است. برای تغییض ویروس‌های روده‌ای (از نمونه فاضلاب) از غشاهای الکترونگاتیو و الکتروپاکتیو استفاده می‌شود. بر مبنای روابط الکترو استاتیکی 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 الکتروپاکتیو متصل می‌شوند. روش دیگری که برای تغییض 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 تغییض ویروس‌های پوششدار انجام شده است و این نوع ویروس‌ها بیشتر بر روی بخش‌های جامد فاضلاب قرار می‌گیرند. در هر گرم مدفوع مبتلايان به کووید ۱۹ حدود ۱۰<sup>۸</sup> RNA ویروس است که در نتیجه باید تغییض ویروس، قبل از

آنترن‌های 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 (wastewater-based epidemiology) WBE شیوع کووید ۱۹ 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 شناساگرها 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 تخمين 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 تغییض 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 لبنی به عنوان کود استفاده می‌کنند پیدا می‌شوند را، تغییض کنند. نتایج نشان داد که فیلتراسیون پشم شیشه روشه با صرفه اقتصادی برای تغییض چندین پاتوژن ناشی از آب به طور همزمان، می‌باشد (۲۲). بلانکو (۲۰۱۹) از جذب با پشم شیشه استفاده کرد و سپس با بافر بازی شست و شو داد و بعد تغییض ثانویه‌ای را به کمک رسوب 6000 PEG انجام داد. ویروس‌هایی که برای آزمایش‌ها استفاده شدند هپاتیت 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 شست و شو 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 بر مثبت، شسته شدن با بافر عصاره گوشت گاو و گلابیسین 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 تغییض HAV و TGEV از ۵۰ لیتر نمونه آب آلوده همگی با استفاده از PH ۱۱ بافر ۱۱ انجام شدند. نتایج نشان داد که اضافه کردن ۸۰ Tween ۸۰ مانع بازیابی TGEV شد، احتمالاً بخاطر از بین بردن لیپید حاوی پوشش ویروس باشد. در کل تحقیق انجام شده توسط برانکو، به طور واضح نشان داد که فرآیندهای معمول تغییضی مورد استفاده برای ویروس‌های بدون پوشش به طبیعتی 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 پلیمراز (PCR)، آزمایش اسیدنوکلئیک و کیت‌های آزمایش الایزا 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-PCR یا RT-qPCR (آشیانه‌ای) است. محققین سه تست TaqMan qPCR که ژن‌های RNA پلیمراز 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  $\frac{3}{8}$  و  $\frac{5}{2}$  و  $\frac{8}{3}$  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 به خوبی 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 (۲۵، ۲۶).

### 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 عفونت‌زاوی ویروس سارس در نمونه آب استریلیزه که در ابتدا حاوی تیتر ویروس برابر با  $10^6$  TCID<sub>50</sub> 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 جمع آوری نمونه هاست:

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

در 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) تغليظ و استخراج RNA

حدود یک لیتر فاضلاب تازه را در مرحله تغليظ اولیه با دور پاين سانتريفيوژ نموده تا ذرات اضافی حذف و ته نشين شود. در مرحله تغليظ ثانويه می‌توان از PEG و یا آلوم (زاج) و یا اولترافيلتراسيون برای ته نشينی استفاده شود که همراه با یک سانتريفيوژ مختصر می‌باشد. مخلوط ته نشين شده سپس در دمای ۴ درجه سانتي‌گراد در انکوباتور شيكر دار با دور ۱۰۰ دقیقه در ۱۲ ساعت انکوبه می‌گردد. سپس در ۱۴۰۰۰ g به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتي‌گراد سانتريفيوژ شده تا ذرات ویروس تجمع يابد. ذرات سپس در نمک بافر فسفات (PBS) دوباره تعليق شود. فاز آبي (حاوى ذرات ویروس) از طريق فيلتر ۰/۲۲ ميكرومتر جمع آوري و فيلتر شوند. اين مرحله می‌تواند با استفاده از یک اولتراسانتريفيوژ ادامه يابد و در نهاييت نمونه غليظ شده در يك ميلى لیتر 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 بهطورکلی مراقبت از ورود آب‌های حاوی ویروس به منابع آب در کنترل ویروس سهم بسزایی خواهد 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 تغییط نمونه‌های ویروسی برای یافتن بهترین روش استفاده شده برای تغییط کووید ۱۹ نیز بررسی شده است.

**حامي مالي:** دانشگاه يزد.

**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 به صورت تفکیکی بوده‌اند و نتایج آن‌ها به طور 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 آلوگی آلی و میکروبی به طور 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 زیست نشانگرهای 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 زیست‌نشانگرهای 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-Schwarze KA, Russell JR, Kovar JL, Morrical 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-CoV-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, Buyukyorum R, Wilkinson, et al. *Temporal Detection and Phylogenetic Assessment of SARS-CoV-2 in Municipal Wastewater.* Cell Reports Medicene 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<sup>†1</sup>, Kiarash Sadeghian Esfahani<sup>1</sup>

### 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 drapelet 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

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.

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