



## Detection of SARS-CoV-2 in hospital wastewater during the Covid-19 pandemic

Elahe Mobarak Qamsari<sup>1</sup>, Parisa Mohammadi<sup>2</sup>, Mahtab Baghban<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Assistance Professor, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran. <sup>2</sup>Associate Professor, Research Center for Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran. <sup>3</sup>The manager of water and wastewater quality monitoring and supervision center, Tehran water and Wastewater Company, Tehran, Iran.

### Abstract

**Background & objectives:** Hospital sewage is believed to be an important source of the spread of pathogenic microorganisms including the emerging SARS-CoV-2 virus in the environment. In this study, the performance of wastewater treatment system of three hospitals dedicated to COVID-19 patients in Tehran in removal of SARS-CoV-2 was investigated.

**Materials & methods:** Wastewater samples were collected from the influent and final effluent of two hospitals. Samples were characterized in terms of temperature, acidity, turbidity, biochemical oxygen demand (BOD), chemical oxygen demand (COD) as well as total suspended solids (TSS). To concentrate RNA, Ultrafiltration and Polyethylene glycol (PEG) precipitation methods were done followed by RNA extraction and viral quantification using RT-qPCR. Finally, through Multiplex One Step q-Real Time PCR method, two N and RdRP regions in the genome of the SARS-CoV-2 were investigated.

**Results:** The reduction of organic load (BOD and COD) and TSS content of wastewater show that wastewater treatment of hospital 1 was more efficient. Moreover, the results of this study show that concentrating by using both methods of Ultrafiltration and PEG precipitation method has been successful in tracking the presence of the viral RNA in wastewater. The presence of SARS-CoV-2 genome has been confirmed in influent and final effluent of two hospitals.

**Conclusion:** SARS-CoV-2 in the hospital effluents can be a warning for sanitation authorities to establish new standards for hospital wastewater management. Besides, monitoring of sewage can be considered as a tool for early warning of the outbreak of pandemics.

**Keywords:** COVID-19, Wastewater, Viral RNA, Ultrafiltration, Polyethylene glycol.

Received: 4 September 2023

Revised: 1 January 2024

Accepted: 30 January 2024

Correspondence to: Parisa Mohammadi

Tel: +98 2188044051-9

E-mail: [p.mohammadi@alzahra.ac.ir](mailto:p.mohammadi@alzahra.ac.ir)

Journal of Microbial World 2024, 16 (4): 245 - 252



Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.



## ردیابی کرونا ویروس جدید (SARS-CoV-2) در فاضلاب بیمارستانی در زمان پاندمی

### کووید ۱۹

الهه مبارک قمصری<sup>۱</sup>، پریسا محمدی<sup>۲\*</sup>، مهتاب باغبان<sup>۳</sup>

استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء(س)، تهران، ایران. <sup>۱</sup>دانشیار، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء(س)، تهران، ایران. <sup>۲</sup>مدیر مرکز پایش و نظارت بر کیفیت آب و فاضلاب، شرکت آب و فاضلاب استان تهران، تهران، ایران.

#### چکیده

**سابقه و هدف:** فاضلاب بیمارستانی به عنوان منبع مهم انتشار میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، از جمله ویروس نوظهور SARS-CoV-2، در محیط زیست مورد توجه می‌باشد. در این تحقیق، فاضلاب دو بیمارستان منتخب اختصاص یافته به بیماران COVID-19 در شهر تهران، با روش RT-qPCR بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** پارامترهای دما، pH، کدورت، میزان کل جامدات معلق (TSS)، اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) و اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی (BOD) در نمونه‌های فاضلاب ورودی و پساب نهایی هر یک از بیمارستان‌ها سنجش شد. برای تغلیظ نمونه‌های فاضلاب و استخراج ژنوم ویروسی، از دو روش اولترافیلتراسیون و رسوب‌گذاری با پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) استفاده شد. در نهایت به روش Multiplex One Step q-Real Time PCR دو ناحیه N و RdRP در ژنوم کروناویروس (SARS-CoV-2) بررسی شد. **یافته‌ها:** نتایج کاهش بار آلی (COD و BOD) و محتوای TSS فاضلاب نشان می‌دهد که تصفیه فاضلاب بیمارستان ۱ کارآمدتر بوده است. همچنین، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تغلیظ به هر دو روش اولترافیلتراسیون و رسوب‌گذاری با PEG در ردیابی RNA ویروس در فاضلاب موفق عمل کرده و وجود ژنوم SARS-CoV-2 در نمونه‌های پساب ورودی و خروجی مثبت شده است. **نتیجه‌گیری:** وجود SARS-CoV-2 در پساب بیمارستانی می‌تواند هشدار برای مقامات بهداشتی برای بازنگری اساسی بهبود کارایی تصفیه خانه‌های بیمارستانی باشد. همچنین، نظارت بر جریان فاضلاب را می‌توان به عنوان ابزاری برای هشدار اولیه شیوع پاندمی‌ها در نظر گرفت.

**کلمات کلیدی:** COVID-19، پساب، RNA ویروسی، اولترافیلتراسیون، پلی‌اتیلن گلیکول.

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۱۰

ویرایش مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۶/۱۳

#### مقدمه

نامگذاری کرد. کروناویروس جدید ۷۵-۸۰ درصد با SARS-CoV سندرم حاد تنفسی (سارس) تشابه توالی نشان داد و کمیته بین المللی طبقه‌بندی ویروس‌ها، آن را سندرم حاد تنفسی (Severe Acute Respiratory Syndrome) یا کرونا ویروس ۲ (SARS-CoV-2) نامگذاری کرد (۱). مسیر اصلی

در ۱۱ فوریه سال ۲۰۲۰، WHO رسماً بیماری ناشی از کروناویروس جدید را کووید-۱۹ (Corona Virus Disease 2019)

(\* آدرس برای مکاتبه: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء(س)، تهران. تلفن: ۰۲۱-۸۸۰۴۴۰۵۱-۹. پست الکترونیک: p.mohammadi@alzahra.ac.ir

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (<http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/>) در فصلنامه دنیای میکروباها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.



قبل از استخراج RNA ویروسی می‌باشد. از مهمترین روش‌های تغلیظ می‌توان به روش رسوب‌گذاری با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول، اولترافیلتراسیون و غشاهای الکترونگاتیو اشاره کرد (۱۱ و ۱۲). در این مطالعه برای تغلیظ نمونه‌های فاضلاب، از دو روش اولترافیلتراسیون با واحدهای اولترافیلتر Vivaspin® 20 10 کیلو دالتونی و روش رسوب‌گذاری با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول استفاده شد. سپس ردیابی مولکولی SARS-CoV-2 از طریق تکنیک RT-qPCR، در چند نمونه پساب بیمارستانی، انجام شد. نتایج این مطالعه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی درباره سرنوشت این ویروس نوظهور در فاضلاب، قبل از ورود به محیط زیست، برای ما فراهم سازد. همچنین نتایج حاصل می‌تواند در بررسی کارایی سیستم‌های تصفیه فاضلاب بیمارستانی و نیز ارتقای روش‌های مناسب تیمار، بسیار کاربردی عمل کند.

### مواد و روش‌ها

*الف) نمونه‌برداری و آنالیز شیمیایی:* نمونه‌های فاضلاب از واحدهای تصفیه فاضلاب دو بیمارستان مخصوص درمان بیماران مبتلا به کووید ۱۹، در شهر تهران گرفته شد. مکان و نام دقیق این بیمارستان‌ها به دلیل توافق محرمانه، قابل انتشار نیست. هر دو بیمارستان مجهز به تصفیه فاضلاب هوازی حاوی لجن فعال با هوادهی گسترده و کلرزنی نهایی پساب بودند. نمونه‌برداری از هر بیمارستان طی بازه یک ماهه در زمان موج چهارم کرونا انجام شد. تقریباً ۱ لیتر نمونه به صورت جداگانه از پساب ورودی و پساب نهایی از هر بیمارستان جمع‌آوری شد. طبق توافق به‌عمل آمده مجوز نمونه‌برداری برای یک دور صادر گردید و امکان تکرار وجود نداشت. نمونه‌ها بلافاصله با رعایت زنجیره سرد (۴ درجه سلسیوس) به آزمایشگاه منتقل شدند. ۵۰۰ میلی لیتر از پساب بیمارستانی جمع‌آوری شده به لحاظ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بررسی شد و پارامترهای دما، pH، کدورت، میزان کل جامدات معلق، اکسیژن مورد نیاز شیمیایی (COD) و اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی (BOD) سنجش شد (۱۳).

انتقال کرونا ویروس‌های انسانی و به خصوص SARS-CoV-2، از طریق قطرات تنفسی و تماس مستقیم است. از آنجا که در مطالعات چندی، حضور RNA SARS-CoV-2 در مدفوع بیماران آلوده گزارش شده است، انتقال مدفوعی-دهانی نیز به عنوان یک راه انتقال احتمالی در نظر گرفته می‌شود (۲ و ۳). سیستم‌های فاضلاب می‌توانند ابزاری برای شناسایی ویروس‌های دفع شده از طریق مدفوع در سراسر یک منطقه باشند. از این طریق امکان پایش اپیدمیولوژی عفونت‌های ویروسی، حتی در شرایطی که از طریق داده‌های بالینی قابل شناسایی نیستند، فراهم خواهد آمد. این روش به خصوص برای عفونت‌های ویروسی که عوارض بسیار حادی نشان می‌دهند نظیر کروناویروس جدید، می‌تواند بسیار موثر باشد (۴). پایش فاضلاب تاکنون برای ویروس‌هایی که با غلظت‌های زیاد از طریق مدفوع پراکنده می‌شوند مانند آدنووirus، نورووirus، روتووirus، انترووirus و ویروس هپاتیت A به کار گرفته شده است (۵). اما در زمینه‌ی ظهور و بقا ویروس SARS-CoV-2 در پساب و آب‌های محیطی و نیز فرآیندهای تصفیه فاضلاب اطلاعات زیادی وجود ندارد (۶ و ۷). فاضلاب‌های بیمارستانی، به دلایل مختلف از جمله استفاده از روش‌های آزمایشگاهی و تشخیصی و نیز تحقیقاتی، از منابع مهم آلاینده‌ها می‌باشند. فاضلاب‌های بیمارستانی حاوی عناصر خطرناک و پاتوژن‌های میکروبی متنوع و عوامل ویروسی مانند SARS-CoV2 هستند (۸). در صورت عدم تیمار این نوع فاضلاب‌ها و تخلیه آن‌ها به سیستم‌های فاضلاب شهری و به دنبال آن ورود به آب‌های سطحی، خطرات فیزیکی، شیمیایی و زیستی فراوانی به سلامت عموم و بهداشت محیط تحمیل می‌شود و امکان شیوع سریعتر CoV-19 و سایر عفونت‌ها را فراهم می‌کند. از این رو بررسی وضعیت تصفیه فاضلاب بیمارستانی یک اقدام ضروری به نظر می‌رسد (۹ و ۱۰). هدف این مطالعه بررسی حضور SARS-CoV2 در فاضلاب‌های بیمارستانی می‌باشد. یکی از مراحل اصلی در تشخیص حضور کرونا ویروس در فاضلاب، مرحله تغلیظ نمونه‌های فاضلاب

مقدار Ct زیر ۴۰ مثبت ارزیابی شد.

### یافته‌ها

(الف) خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی: مشخصات نمونه‌های فاضلاب دو بیمارستان منتخب از نظر دما، pH، کدورت، TSS، COD، BOD و میزان کلر باقیمانده در جدول ۱ نشان داده شده است. پارامترهای دما، مواد جامد معلق و مواد آلی از خصوصیات مهم فاضلاب هستند. اگرچه در این تحقیق، روش تصفیه فاضلاب هر دو بیمارستان مشابه بودند اما نتایج کاهش بار آلی (COD و BOD) و محتوای TSS فاضلاب نشان می‌دهد که تصفیه فاضلاب بیمارستان ۱ کارآمدتر بوده است.

جدول ۱: نتایج آنالیز فیزیکوشیمیایی نمونه‌های فاضلاب ورودی و نمونه‌های فاضلاب خروجی بعد از مرحله گندزایی.

نمونه	پارامتر	فاضلاب ورودی	فاضلاب خروجی
بیمارستان ۱	دما	۱/۲۵±۳/۰	۲۵/۴±۰/۲۸
	pH	۷/۳۳±۰/۲۳	۷/۳۲±۰/۳۲
	کدورت (NTU)	۱۷۵±۱۵	۶/۶۸±۷/۷۴
	TSS (mg/ml)	۲۴۳±۵۱	۳±۴/۲۴
	COD (mg/ml)	۱۱۲۴±۶۱۰	۱۹/۱±۵/۲۳
بیمارستان ۲	BOD <sub>5</sub> (mg/ml)	۷۲۵/۵±۳۹۷/۵	۱۲/۳۵±۳/۱۸
	دما	۲۵/۱±۰/۴۲	۲۴/۲±۰/۴۲
	pH	۷/۸۵±۰/۲۹	۷/۴۷±۰/۱
	کدورت (NTU)	۵۹/۴۵±۰/۷۷	۴۵/۱۵±۱/۲
	TSS (mg/ml)	۲۱۴/۸±۳۲/۲۴	۱۴۹±۰/۷
	COD (mg/ml)	۲۱۴/۸±۳۲/۲۴	۱۳۹/۶±۷۸/۶۳
	BOD <sub>5</sub> (mg/ml)	۱۵۶±۴۵/۲۵	۱۰۰±۶۴/۶۳

(ب) تشخیص SARS-CoV-2 در فاضلاب بیمارستانی: نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی شامل فاضلاب خام و پساب نهایی (پس از کلرزنی) از هر بیمارستان از نظر وجود SARS-CoV-2 از طریق RT-qPCR آزمایش شد. نتایج مربوط به منحنی تکثیر یک نمونه فاضلاب همراه منحنی‌های تکثیر نمونه‌های مثبت و منفی در تصویر ۱ نشان داده شده‌اند. زمانی که مقدار Ct برای

(ب) تغلیظ به روش اولترافیلتراسیون: ابتدا به منظور جدا سازی ذرات بزرگ موجود در فاضلاب، از سانتریفوژ با دور ۴۶۰۰ g× به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. مایع رویی با استفاده از لوله‌های اولترافیلتر با وزن مولکولی ۱۰ Da تغلیظ و این عمل چند بار تکرار شد. کل مایع تغلیظ شده روی فیلتر برای آنالیزهای بعدی در ۷۰ C°- ذخیره شد (۱۳).

(پ) تغلیظ به روش رسوب‌گذاری با پلی اتیلن گلیکول (PEG): در این روش ابتدا نمونه‌های فاضلاب در دور ۴۶۰۰ g× به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. به ۵۰ میلی‌لیتر از مایع رویی، PEG (10 %) و NaCl (0.3 mol/L) اضافه و به خوبی مخلوط و یک شب در دمای ۴ سلسیوس قرار داده شد. سپس مخلوط در دور ۱۰۰۰۰ g× به مدت ۹۰ دقیقه سانتریفوژ شد. در نهایت رسوب حاصل در مقدار کمی آب دیونیزه به صورت سوسپانسیون در آمد و از این سوسپانسیون برای استخراج RNA استفاده گردید (۱۴).

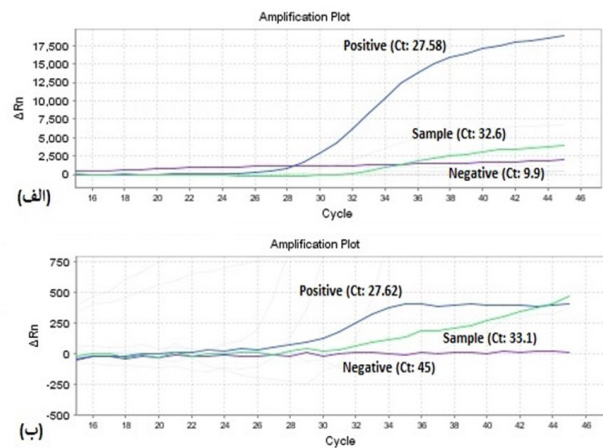
(ت) استخراج RNA و آزمون RT-qPCR: استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA ویروسی ROJE (ساخت ایران، کد محصول RN983072) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. به طور خلاصه، ۱۴۰ میکرولیتر نمونه با بافر لایز و حامل RNA مخلوط شد. با افزودن اتانول به بافر لایز، شرایط مناسب برای اتصال RNA به غشای سیلیکا به دست آمد. ناخالصی‌های نمونه، با دو بافر مخصوص شستشو حذف شد و RNA خالص ویروسی در بافر هیدراتاسیون قرار داده شد. در نهایت RNA استخراج شده در دمای ۷۰- درجه سلسیوس ذخیره شد.

کیت تشخیصی SENMURV COVID-19 Multiplexed RT-PCR، برای انجام آزمایش‌های PCR کمی در زمان واقعی استفاده شد. سنجش SARS-CoV-2 PCR شامل یک مجموعه پرایمر/کاوشرگر است که ژن N آن با FAM، ژن RdRP با ROX و RNaseP با HEX نشاندار شده است. یک کنترل منفی، برای اطمینان از حذف آلودگی‌های احتمالی نمونه در حین اجرای آزمایش و یک کنترل مثبت برای تأیید آزمون استفاده شدند. مطابق دستورالعمل سازنده کیت، به لحاظ کنترل RNA داخلی،

### بحث

مثبت شدن نتایج ردیابی مولکولی SARS-CoV-2 از طریق تکنیک RT-qPCR، در پساب خروجی بیمارستان‌ها نشان می‌دهد که فرآیندهای تصفیه فاضلاب و کلرزنی در حذف اجزای ویروسی کارآمد نبوده است. سیستم لجن فعال با هوادهی گسترده رایج‌ترین روش تصفیه و کلرزنی متداول‌ترین روش ضدعفونی در تصفیه‌خانه‌های بیمارستانی است (۱۵). گزارش شده است که ماده ضدعفونی کننده کلر، از طریق شکستن پیوند پپتیدی پروتئین کپسید، ویروس‌ها را غیرفعال می‌کند و به این طریق از انتقال ژنوم ویروسی به سلول‌های میزبان جلوگیری می‌کند. با این حال، پایداری ویروس‌ها در پساب‌های کلر زده گزارش شده است و این موضوع می‌تواند به وجود مواد آلی در پساب‌ها نسبت داده شود که تجمع ویروس را تسهیل می‌کنند و تماس ذرات ویروسی با ماده ضدعفونی را کاهش می‌دهند. ماندگاری کروناویروس‌ها در فاضلاب همچنین تحت تأثیر عواملی مانند اسیدیت، دما، ترکیبات فاضلاب، میزان رطوبت، کل مواد جامد معلق و ساختار ویروس است (۱۶). گزارش شده است که مواد جامد معلق می‌توانند از ویروس محافظت کنند و به دنبال آن به دوزهای بالاتری از مواد ضدعفونی کننده نیاز است. با این حال، افزایش دوز مواد ضدعفونی کننده ممکن است منجر به تشکیل محصولات جانبی سمی‌تر و خطرات زیست محیطی بیشتر شود (۱۷). در مطالعه ابوعلی و همکاران، تصفیه فاضلاب توانست TSS را تا ۵۰ درصد کاهش دهد و روش تصفیه لجن فعال در حذف ذرات ویروسی متصل به جامدات معلق کارآمد بود. با این حال، آن‌ها نیز حذف نشدن کامل RNA ویروس SARS-CoV-2 در پساب خروجی را گزارش دادند (۱۸). همچنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تغلیظ به هر دو روش اولترافیلتراسیون و رسوب‌گذاری با PEG در ردیابی حضور RNA ویروس در فاضلاب موفق عمل کرده است و وجود ژنوم SARS-CoV-2 در نمونه‌های پساب ورودی و خروجی مثبت شده است. PEG یک پلیمر بی اثر و زیست سازگار است که اغلب از آن برای رسوب دادن پروتئین‌ها

نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی شامل فاضلاب خام و پساب نهایی (پس از کلرزنی) از هر بیمارستان از نظر وجود SARS-CoV-2 از طریق RT-qPCR آزمایش شد. نتایج مربوط به منحنی تکثیر یک نمونه فاضلاب همراه منحنی‌های تکثیر نمونه‌های مثبت و منفی در تصویر ۱ نشان داده شده‌اند. زمانی که مقدار  $C_t$  برای هر دو ژن N و RdRP، زیر ۴۰ باشد، آزمون مثبت در نظر گرفته می‌شود که این نتایج در جدول ۲ ارائه شده است.



تصویر ۱: منحنی تکثیر (الف) ژن N و (ب) ژن RdRP به همراه کنترل‌های مثبت و منفی.

جدول ۲: نتایج RT-qPCR نمونه‌های فاضلاب بیمارستانی بر اساس ژن‌های RdRP و N ویروس SARS-CoV-2 تغلیظ شده به روش اولترافیلتراسیون و رسوب‌گذاری با PEG.

روش تغلیظ	نوع فاضلاب	ژن‌های هدف			
		بیمارستان ۱		بیمارستان ۲	
		RdRP	N	RdRP	N
	فاضلاب ورودی	-	۳۶	۳۲/۶	۳۴/۴
	فاضلاب خروجی	-	۳۵	۳۳/۱	۳۲/۶
اولترافیلتراسیون	فاضلاب ورودی	-	۳۴	-	۳۲
	فاضلاب خروجی	-	-	-	-
	فاضلاب ورودی	۳۵/۲	۳۴	۳۱/۵	-
رسوب‌گذاری	فاضلاب خروجی	-	-	۳۱/۹	-
با PEG	فاضلاب ورودی	-	۳۳	-	۳۳
	فاضلاب خروجی	-	-	-	-

می‌توان به‌عنوان ابزاری برای هشدار اولیه در نظر گرفت. از اینرو پیشنهاد می‌گردد که پایش دوره‌ای از پساب‌های بیمارستانی انجام و راهبردهای تصفیه فاضلاب بیمارستانی ارتقا داده شود. با توجه به حساسیت موضوع در زمان پاندمی کرونا ویروس، مجوز نمونه برداری‌های دوره‌ای وجود نداشت. از اینرو پیشنهاد می‌شود در بررسی‌های جامع‌تر، نمونه‌برداری از یک بیمارستان در بازه‌های زمانی مختلف انجام شود.

### ملاحظات اخلاقی

نویسندگان این مقاله پژوهشی کلیه نکات اخلاقی اعم از سرقت ادبی، عدم انتشار دوگانه و تحریف داده‌ها را رعایت کرده‌اند.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری‌های صمیمانه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه الزهراء(س) و شرکت آب و فاضلاب استان تهران تقدیر و تشکر می‌گردد.

### تعارض منافع

وجود ندارد.

استفاده می‌کنند (۱۹). PEG مولکول‌های آب را از لایه پروتئینی کپسید ویروسی جدا می‌کند و تعامل ویروس-ویروس را افزایش داده و منجر به رسوب ذرات ویروسی می‌شود (۱۷). رسوب‌گذاری با استفاده از PEG از متداول‌ترین روش‌های تغلیظ در مطالعات اپیدمیولوژی بر مبنای فاضلاب می‌باشد (۲۰ و ۲۱). همچنین PEG با راندمان بالایی موجب تغلیظ ویروس هپاتیت در موش شد که در مطالعات مختلف به عنوان ویروس مدل به‌جای SARS-CoV-2 استفاده می‌شود (۲). اخیراً گونکالوس و همکاران گزارش دادند که لوله‌های اولترافیلتر ۱۰ کیلو دالتون می‌تواند به صورت کارآمدی برای تغلیظ RNA SARS-CoV-2 از فاضلاب استفاده شود (۲۲). برای مقایسه بهتر دو روش تغلیظ، پیشنهاد می‌گردد که این دو با استفاده از ویروس‌های مدل، ارزیابی شوند و همچنین در تحقیقات آینده امکان تغلیظ SARS-CoV-2 در اجزای جامد فاضلاب خام بیمارستانی فراهم شود. در این بررسی وجود ژنوم SARS-CoV-2 در فاضلاب خام و پساب خروجی تأیید شد، اما امکان انتقال عفونت از طریق فاضلاب مستلزم انجام آزمون‌های عفونت‌زایی ویروس است. لازم به ذکر است اگرچه تا به امروز گزارشی از انتقال ویروس SARS-CoV-2 از طریق فاضلاب به انسان منتشر نشده است ولی نتایج محققین اهمیت نظارت بر فاضلاب را به‌عنوان ابزار هشدار دهنده اولیه انتشار سویه‌های جدید ویروسی در جوامع تأیید می‌کند (۲۱ و ۲۲).

### نتیجه‌گیری

آگاهی از وجود ویروس SARS-CoV-2 در فاضلاب، همراه با ارزیابی بقا و حذف آن در روش‌های مختلف تصفیه، می‌تواند برای ارزیابی و مدیریت خطر بسیار مفید باشد. صرف‌نظر از منبع دفع ویروس، تشخیص ویروس در فاضلاب به‌وسیله شبکه‌های نظارت بر کیفیت فاضلاب، امکان ردیابی همه‌گیری در یک منطقه را فراهم خواهد کرد که می‌تواند به طور بالقوه از گسترش سریع COVID-19 و یا سایر عفونت‌های ویروسی جلوگیری کند. در حقیقت، نظارت بر کیفیت فاضلاب را

## References

1. Morawska L. Cao J. Airborne transmission of SARS-CoV-2: the world should face the reality. *Environ Int.* 2020; 139: 105730.
2. Wu Y. Guo C. Tang L. Hong Z. Zhou J. Dong X. Yin H. Xiao Q. Tang Y. Qu X. Kuang L. Fang X. Mishra N. Lu J. Shan H. Jiang G. Huang X. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *Lancet. Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5: 434–435.
3. Ahmed W. Angel N. Edson J. Bibby K. Bivins A. O'Brien J. Choi PM. Kitajima M. Simpson SL. Li J. Tschärke B. Verhagen R. Smith W. Zaugg J. Dierens L. Hugenholz P. Thomas K. Mueller JF. 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; 138764.
4. Xagorarakis I, O'Brien E. Wastewater-Based Epidemiology for Early Detection of Viral Outbreaks. *Women in Water Quality.* 2020; 75-97.
5. Carducci A, Verani M, Battistini R, Pizzi F, Rovini E, Andreoli E, et al. Epidemiological surveillance of human enteric viruses by monitoring of different environmental matrices. *Water Sci Technol.* 2006; 54(3): 239-244.
6. Kitajima M. Ahmed W. Bibby K. Carducci A. Gerba CP. Hamilton KA. Joan B. Rose JB. SARS-CoV-2 in wastewater: state of the knowledge and research needs. *Sci Total Environ.* 2020; 739: 139076.
7. Lahrich S. Laghrib F. Farahi A. Bakasse M. Saqrane S. El Mhammedi MA. Review on the contamination of wastewater by COVID-19 virus: impact and treatment. *Sci Total Environ.* 2021; 751: 142325.
8. Hata A. Honda R. Potential sensitivity of wastewater monitoring for SARS-CoV-2: comparison with Norovirus cases. *Environ Sci Technol.* 2020; 54: 6451–6452.
9. Achak M. Alaoui Bakri S. Chhiti Y. M'hamdi Alaoui FE. Barka N. Boumya W. SARS-CoV-2 in hospital wastewater during outbreak of COVID-19: A review on detection, survival and disinfection technologies. *Sci Total Environ.* 2021; 761: 143192.
10. Majumder A. Gupta AK. Ghosal PS. Varma M. A review on hospital wastewater treatment: a special emphasis on occurrence and removal of pharmaceutically active compounds, resistant microorganisms, and SARS-CoV-2. *J Environ Chem Eng.* 2021; 7: 104812.
11. Ahmed W. Bertsch PM. Bivins A. Bibby K. Farkas K. Gathercole A. Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR-based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. *Sci Total Environ.* 2020; 739: 139960.
12. LaRosa G. Bonadonna L. Lucentini L. Kenmoe S. Suffredini E. Coronavirus in water environments: occurrence, persistence and concentration methods - a scoping review. *Water Res.* 2020; 179: 115899.

13. Westhaus S. Weber FA. Schiwy S. Linnemann V. Brinkmann M. Widera M. Greve C. Janke A. Hollert H. Wintgens T. Ciesek S. Detection of SARSCoV-2 in raw and treated wastewater in Germany – suitability for COVID-19 surveillance and potential transmission risks. *Sci Total Environ.* 2021; 751: 141750.
14. Zhang D. Ling H. Huang X. Li J. Li W. Yi C. Zhang T. Jiang Y. He Y. Deng S. Zhang X. Wang X. Liu Y. Li G. Qu J. Potential spreading risks and disinfection challenges of medical wastewater by the presence of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) viral RNA in septic tanks of Fangcang Hospital. *Sci Total Environ.* 2020; 741: 140445.
15. Jamialahmadi N. Rahimi S. Esmaili A. Hospital wastewater in Iran: a systematic review and challenges for proper management during coronavirus disease (2019) pandemic. *J Appl Res Water Wastewater.* 2021; 8 (1): 59-65.
16. Sangkham S. A review on detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in light of the current knowledge of treatment process for removal of viral fragments. *J Environ Manage.* 2021; 299: 113563.
17. Mandal P. Gupta AK. Dubey BK. A review on presence, survival, disinfection/ removal methods of coronavirus in wastewater and progress of wastewater- based epidemiology. *J Environ Chem Eng.* 2020; 8: 104317.
18. Abu Ali H. Yaniv K. Bar-Zeev E. Chaudhury S. Shagan M. Lakkakula S. Ronen Z. Kushmaro A. Nir O. Tracking SARS-CoV-2 RNA through the wastewater treatment process. *ACS ES&T Water.* 2021; 1: 1161–1167.
19. Corpuz MVA. Buonerba A. Vigliotta G. Zarra T. Ballesteros F. Campiglia P. Belgiorno V. Korshin G. Naddeo V. Viruses in wastewater: occurrence, abundance and detection methods. *Sci Total Environ.* 2020; 745: 140910.
20. Balboa S. Mauricio-Iglesias M. Rodriguez S. Martínez-Lamas L. Vasallo FJ. Regueiro B. Lema JM. The fate of SARS-COV-2 in WWTPS points out the sludge line as a suitable spot for detection of COVID-19. *Sci Total Environ.* 2021; 772: 145268.
21. Kumar M. Kuroda K. Patel AK. Patel N. Bhattacharya P. Joshi M. Joshi CG. Decay of SARS-CoV-2 RNA along the wastewater treatment outfitted with Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) system evaluated through two sample concentration techniques. *Sci Total Environ.* 2021; 754: 142329.
22. Gonçalves J. Koritnik T. Mioč V. Trkov M. Bolješič M. Berginc N. Prosenc K. Kotar T. Paragi M. Detection of SARS-CoV-2 RNA in hospital wastewater from a low COVID-19 disease prevalence area. *Sci Total Environ.* 2021; 755: 143226.