**Applied Molecular Biology**
Vol.1, issu.2, Spring. 2023

# Knowledge gaps and research needs for novel coronavirus

**Ellahe Mobarak Qamsari*, Parisa Mohammadi****

**Objective:** The global epidemic of COVID-19 caused by the acute respiratory syndrome virus (SARS-CoV-2) has created an emergency and alarming situation in the field of public health, which was officially announced by the World Health Organization. The SARS-CoV-2 virus is a member of the coronavirus family, which includes enveloped viruses with single-stranded RNA genomes that cause illnesses ranging from the common cold to acute respiratory syndrome. Although the main routes of transmission of SARS-CoV-2 are inhalation of aerosol/respiratory droplets and person-to-person contact, available evidence suggests that viral RNA is also present in wastewater, and a better understanding of the physico-chemical characteristics of wastewater is needed as a potential source of the virus in epidemiological studies.
***Methods:*** In this paper, we review information related to the importance of wastewater monitoring for a better understanding of the epidemiology of the COVID -19 disease, the methodology for the detection and quantification of SARS-CoV-2 in wastewater, and the assessment of the public health risk posed by this virus. There is a lot of clinical evidence of the presence of gastrointestinal symptoms in patients with SARS-CoV-2 infection, which confirms the presence of viral RNA not only in the feces of infected people, but also in wastewater. One of the main challenges in the detection and quantification of SARS-CoV-2 in wastewater samples is the lack of optimized and standardized guidelines.
***Conclusion:*** Our knowledge about the potential role of sewage in the transmission of SARS-CoV-2 is largely limited due to the lack of information about the presence, persistence and removal of this virus in sewage. There is an urgent need for more research to introduce effective methods in the field of wastewater monitoring and to understand the consequences of the presence of SARS-CoV-2 in wastewater.

**Keywords:** Coronavirus, SARS-CoV-2, COVID-19, Wastewater, Epidemiology

---

* Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University. emobarak110@gmail.com
** Research Center for Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, Alzahra University. pmohammadi@alzahra.ac.ir

**زیست شناسی مولکولی کاربردی**
سال اول/ شماره ۲/ بهار ۱۴۰۲

# خلاءهای علمی و نیازهای پژوهشی در مورد کرونا ویروس جدید

**الهه مبارک قمصری*، پریسا محمدی****

## چکیده

**هدف مطالعه:** همه‌گیری جهانی بیماری کووید-۱۹ ناشی از ویروس سندرم حاد تنفسی (SARS-CoV-2) وضعیت اضطراری و نگران کننده‌ای درحوزه‌ی بهداشت عمومی ایجاد نموده است که به طور رسمی سازمان بهداشت جهانی آن را اعلام نمود. ویروس SARS-CoV-2 عضوی از خانواده کروناویریده است که شامل ویروس‌های پوشش دار با ژنوم RNA تک رشته‌ای است و باعث ایجاد بیماری‌هایی از سرماخوردگی معمولی تا سندرم حاد تنفسی می‌شود. اگرچه راه‌های اصلی انتقال SARS-CoV-2 استنشاق آئروسل یا قطرات تنفسی و تماس فرد به فرد است، شواهد موجود نشان می‌دهد که RNA ویروسی در فاضلاب نیز وجود دارد و نیاز به درک بهتر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فاضلاب به عنوان منبع بالقوه ویروس در مطالعات اپیدمیولوژیکی است.

**روش‌ها:** در این مقاله، اطلاعات مربوط به اهمیت نظارت بر فاضلاب برای درک بهتر اپیدمیولوژی بیماری کووید- ۱۹، روش‌شناسی تشخیص و تعیین کمیت SARS-CoV-2 در فاضلاب را مرور می‌کنیم. شواهد بالینی زیادی مبنی بر وجود علائم گوارشی در بیماران مبتلا به عفونت SARS-CoV-2 وجود دارد که حضور RNA ویروسی را نه تنها در مدفوع افراد آلوده، بلکه در فاضلاب تائید می‌کند. یکی از چالش‌های اصلی در

* گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا(س). emobarak110@gmail.com
** گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی و بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه الزهرا(س)، (نویسنده مسئول). pmohammadi@alzahra.ac.ir

تشخیص و تعیین کمیت SARS-CoV-2 در نمونه‌های فاضلاب، فقدان دستورالعمل بهینه و استاندارد شده است.

**نتیجه‌گیری:** دانش ما در مورد نقش بالقوه فاضلاب در انتقال SARS-CoV-2 تا حد زیادی به دلیل نبود اطلاعات در مورد حضور، ماندگاری و حذف این ویروس در فاضلاب محدود می‌باشد. نیاز مبرم به تحقیقات بیشتر برای معرفی روش‌های موثر در زمینه نظارت بر فاضلاب و درک پیامدهای حضور SARS-CoV-2 در فاضلاب وجود دارد.

**کلمات کلیدی:** کروناویروس، *SARS-CoV-2*، کووید- ۱۹، فاضلاب، اپیدمیولوژی

**مقدمه**

در دسامبر ۲۰۱۹، شیوع پنومونی با علت ناشناخته را در ووهان، مرکز استان هوبی چین به سازمان بهداشت جهانی گزارش شد. توالی‌یابی شات‌گان متاژنومی نمونه‌های برونکوآلوئولار نشان داد که این شیوع مربوط به یک کروناویروس جدید است. کروناویروس جدید دارای ۷۵ تا ۸۰ درصد شباهت نوکلئوتیدی به کروناویروس سندرم حاد تنفسی بود [۱] که پس از آن به‌طور رسمی به عنوان SARS-CoV-2[1] معرفی شد.

SARS-CoV-2 از ویروس‌های پوشش دار با ژنوم RNA تک رشته‌ای مثبت متعلق به کروناویروس‌های مرتبط با سندرم حاد تنفسی زیر جنس Sarbecovirus از خانواده کروناویریده می‌باشد. بیماری ناشی از SARS-CoV-2 به عنوان کووید- ۱۹ شناخته شد. علائم کووید- ۱۹ در شروع بیماری شامل تب، درد عضلات، خستگی و سرفه خشک است و بیش از نیمی از بیماران دچار تنگی نفس می‌شوند [۲].

ویروس SARS-CoV-2 و RNA آن در ترشحات بدن از جمله بزاق، خلط و مدفوع دفع می‌گردند و متعاقب آن به فاضلاب وارد می‌شوند. اگرچه اعتقاد بر این است که راه اصلی انتقال این ویروس استنشاق آئروسلیا قطرات تنفسی از فرد به فرد و آلوده شدن دست از طریق اشیای غیرزنده است، درک بهتر نقش فاضلاب به عنوان منبع بالقوه انتقال آلودگی در مطالعات اپیدمیولوژیکی ضروری است. در این مقاله اطلاعات موجود

۱. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus

مربوط به موارد نظارت بر فاضلاب برای درک بهتر اپیدمیولوژی کووید- ۱۹ بررسی شد. با توجه به ظهور و انتشار سریع SARS-CoV-2، اطلاعات مربوط به کروناویروس انسانی، SARS-CoV، MERS-CoV و ویروس‌های مشابه می‌تواند به پیش بینی سرنوشت احتمالی محیطی و خطرات بعدی SARS-CoV-2 کمک کند. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که وجودRNAی SARS-CoV-2 در فاضلاب، امکانی برای استفاده از فاضلاب به‌عنوان ابزار نظارتی بر تهاجم، شیوع، اپیدمیولوژی و ریشه‌کنی ویروس در یک جامعه را فراهم می‌کند.

## علائم گوارشی در کووید-۱۹ و دفع SARS-CoV-2 از مدفوع

گزارش‌های اخیر نشان داد که ۲ تا ۱۰ درصد از بیماران کووید-۱۹علائم گوارشی از جمله اسهال را نشان دادند [۳]. آنزیم آنژیوتانسین ۲ (ACE2[۱]) که به عنوان گیرنده سلولی برای SARS-CoV-2 و همچنین SARS-CoV شناخته شده است به وفور در روده کوچک و همچنین ریه و مخاط دهان وجود دارد [۴]. این شواهد از احتمال تکثیر SARS-CoV-2در دستگاه گوارش حمایت می‌کند. تعدادی از محققین وجود RNAی SARS-CoV-2را در مدفوع انسان گزارش کرده‌اند [۵]. شیائو و همکاران RNAی SARS-CoV-2را در ۳۹ از ۷۳ نمونه مدفوع بیماران بستری در بیمارستان جدا کرد. جداسازی موارد مثبت از مدفوع بیماران در ۲۳ درصد از بیماران حتی پس از ناپدید شدن علایم تنفسی ویروس ادامه داشت [۶]. در مطالعات مختلف غلظت های RNAی ویروسی در مدفوع تا $۱۰^{۸}$ کپی در هر گرم مدفوع گزارش شده است [۷]. برخی از مطالعات بالینی دفع طولانی مدت RNAی SARS-CoV-2 از مدفوع را تا ۷ هفته پس از شروع اولین علامت بیماری گزارش کرده‌اند [۸]. گزارش‌های نشان داد که درصد قابل توجهی از افراد آلوده، بدون علامت هستند ولی می‌توانند RNAی SARS-CoV-2 را از طریق مدفوع دفع کنند [۹].

۱. Angiotensin-Converting Enzyme 2

### شواهد وجود SARS-CoV-2 در فاضلاب

اطلاعات ما در مورد حضور کروناویروس در فاضلاب محدود است. این موضوع بـه دلیـل فقدان تحقیقات زیست محیطی قبلی با تمرکز بر کرونا ویروس‌ها می‌باشد. از آنجایی کـه کرونا ویروس‌ها، ویروس‌های پوشش دار هستند و عمدتاً از طریـق تمـاس فـرد بـه فـرد منتشر میشود، لذا حضور آنها در مدفوع نیاز به تجزیه و تحلیل متفاوتی دارد. عـلاوه بـر این، اگرچه حضورRNA ی SARS-CoV-2 در فاضلاب به عنوان ابزار نظارت بر بیمـاری عمومیت پیدا نکرده است، اما توجه محققین را به خود معطوف نموده است [۱۰]. علاوه بر این، تحقیقات قبلی نشان داد که روش‌های اسـتاندارد تغلـیظ ویـروس بـرای بازیـابی ویروس‌های پوششدار از نمونه‌های آب محیطی ناکارآمد هسـتند [۱۱]. در طـول شـیوع بیماری سارس در سال ۲۰۰۴ در چین، RNAی SARS- CoV در ۱۰۰٪ (۱۰ از ۱۰) از نمونه‌هـای تصـفیه نشـده و ۳۰٪ (۳ از ۱۰) از نمونـه‌هـای فاضـلاب گنـدزدایی شـده‌ی بیمارستانی که بیماران سارس را پذیرش می‌کرد، شناسایی شد [۱۲]. همچنین اعتقاد بر این بود که به دلیل نامناسب بودن سیستم تهویه و لوله کشی معیوب بیمارستانهای مورد نظر، چنین فاضلاب هایی می‌تواند در شیوع بیماری سارس موثر باشد [۱۳]. گزارش‌هایی از شناسایی مولکولی SARS-CoV-2 در فاضلاب در هلند، ایالات متحده آمریکا، فرانسـه و استرالیا وجود دارد [ ۸، ۱۰، ۱۴، ۱۵، ۱۶]. در این مطالعات، RNAی SARS-CoV-2 در فاضلاب تصفیه نشده با غلظت بـیش از $۱۰^۶$ کپـی در لیتـر گـزارش شـد. مطالعـه‌ی مشابهی در فرانسه، RNAی SARS-CoV-2 را در فاضلاب تصفیه شـده بـا غلظـت $۱۰^۵$ کپی در لیتر گزارش نمود [۱۵].

### ارزیابی اپیدمیولوژی کووید- ۱۹ از طریق نظارت بر فاضلاب

اپیدمیولوژی مبتنی بر فاضلاب به عنوان یک ابزار مهم در ردیابی چرخش ویروس‌هـا در جامعه، به خوبی عمل می‌کند و فرصت هایی را بـرای تخمـین شـیوع، تنـوع ژنتیکـی و توزیع جغرافیایی آنها فـراهم مـی‌کنـد. بررسـی سیسـتم‌هـای فاضـلاب روش عملـی در شناسایی ویروس‌های دفع شده از طریق دفع مدفوع در یک منطقه ارائه می‌دهد [۱۷]. با

استفاده از این رویکرد، نظارت بر همه‌گیری عفونت‌های ویروسی، حتی اگر با نظارت بالینی مشهود نباشد، امکان‌پذیر می‌شود. ویروسSARS-CoV-2 باعث عفونت‌های بدون علامت یا کم علامت هم می‌شود. تعیین میزان گردش ویروس در جامعه و مقایسه آن در کشورهای مختلف با امکانات آزمایشگاهی و روش‌های تشخیصی گوناگون، دشوار است. در همین حال، نظارت بر فاضلاب می‌تواند به‌طور بی‌طرفانه‌ای گسترش عفونت را در مناطق مختلف ارزیابی کند. این مسئله به ویژه در مناطقی که امکانات آزمایشگاهی محدودی دارند بسیار حائز اهمیت است. علاوه بر این نظارت بر فاضلاب، تغییرات فیلوژنتیکی سویه‌های در گردش را مشخص می‌کند و امکان مقایسه آن در مناطق مختلف و ارزیابی تغییرات و تکامل ژنوم ویروس در طول زمان را فراهم می‌کند.

اهمیت نظارت بر فاضلاب می‌تواند به علت امکان تشخیص غلظت‌های کم ویروس باشد. چنین استراتژی‌های نظارتی می‌تواند به عنوان یک سیستم "هشدار دهنده اولیه" مفید باشد [۱۸]. به عبارت دیگر امکان ورود مجدد SARS-CoV-2 در یک جامعه یا تاثیر مداخلات بهداشت عمومی، مانند قرنطینه، رعایت فاصله اجتماعی و فاصله گذاری اجتماعی و مواجهه با ویروس قابل ارزیابی است. بررسی ویروم فاضلاب، امکان بیشتری را در شناسایی ویروس‌های جدید، قبل از شناسایی بیماری و علایم بالینی آن در جامعه فراهم می‌کند و امکان انجام اقدامات پیشگیرانه و تخصیص اعتبار به مناطق احتمالی آسیب‌دیده را فراهم می‌کند [۱۹، ۲۰]. همبستگی میزان بار ویروسی با تعداد موارد بیماری از نظر اپیدمیولوژیکی چالش برانگیز باشد، زیرا تفاوت در میزان دفع ویروس‌ها در طول دوره عفونت، تأخیرهای زمانی و ثبت نامناسب مکان‌های مختلف به دلیل سفر، استفاده از سیستم‌های فاضلاب متعدد و رقیق شدن فاضلاب از طریق رسوب اجزای فاضلاب ویا نزولات جوی، غیرفعال شدن ویروس در طول فرآیند انتقال فاضلاب و آزمایش‌های بالینی نادر دارد [۱۷]. همچنین، پایداری ژنوم در فاضلاب، راندمان کم روش‌های تغلیظ ویروس، تنوع روش‌های نمونه‌برداری و فقدان دستورالعمل‌های یکپارچه سنجش و حساس به‌ویژه در غلظت‌های کم ویروس، در مجموع تشخیص و تعیین کمیت ویروس را محدود می‌کند. با وجود این چالش‌ها، تلاش‌های متعددی برای معرفی و

توسعه برنامه‌های نظارت محیطی برای ویروس SARS-CoV-2 در حال انجام است. در یکی از این مطالعات، از رویکرد نظارت بر فاضلاب برای تشخیص فیلوژنی سویه‌های در گردشSARS-CoV-2، درک منشای ویروسی و ارزیابی کارایی مداخلات بهداشت عمومی در مهار شیوع ویروس استفاده شد [۱۶]. مطالعات اخیر و سایر پژوهش‌های در حال انجام در نقاط مختلف جهان می‌تواند به مدل‌سازی اپیدمیولوژی شیوع SARS-CoV-2در جوامع مختلف کمک کند و همچنین هشدار برای جوامعی باشد که در تلاش برای کنترل گسترش عفونت هستند. برای جلب پذیرش عمومی رویکرد نظارت بر فاضلاب، نیاز به تعیین چهارچوبی است که مسائل اخلاقی مرتبط با دسترسی اولیه به بهداشت عمومی، رعایت حریم خصوصی و موارد دیگر در نظر گرفته شود [۲۱].

## روش‌های تشخیص SARS-CoV-2 در فاضلاب

همانطور که در گزارش‌ها آمده است، گاه لازم است قبل از شناسایی SARS-CoV-2 در فاضلاب تصفیه نشده، مقدار ویروس در چند مرحله تغلیظ شود [۱۰، ۲۲]. روش‌های مختلفی برای تغلیظ ویروس در فاضلاب وجود دارد. بیشتر این مطالعات با هدف تغلیظ ویروس‌های روده‌ای بدون پوشش مانند نوروویروس، انتروویروس، آدنوویروس و ویروس هپاتیتA، ویروس‌های قابل کشت و باکتریوفاژها به عنوان ویروس‌های مدل، انجام شده است [۲۳]. در مطالعات از غشاهای با بار الکتریکی مثبت و یا بار الکتریکی منفی به طور گسترده‌ای برای تغلیظ ویروس‌های روده‌ای نمونه‌های فاضلاب تصفیه نشده و تصفیه شده استفاده شده است. این روش‌ها بر اساس برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین غشاها و ویروس‌ها است. اکثر ویروس‌های روده‌ای دارای بار الکترواستاتیکی منفی خالص در محیط آبی در pH نزدیک به خنثی هستند. در این روش، ذرات ویروسی با بار الکتریکی منفی مستقیماً روی غشا با بار الکتریکی مثبت جذب می‌شود و یا از طریق پل نمکی با کاتیون چند ظرفیتی به غشا با بار الکتریکی منفی متصل می‌شود [۲۴]. یکی دیگر از روش‌های متداول مبتنی بر غشاء در تغلیظ ویروس‌ها از نمونه‌های آبی، اولترافیلتراسیون است که مکانیسم آن جداسازی بر اساس اندازه است. از روش‌های دیگر از جمله رسوب پلی اتیلن گلیکول، اولتراسانتریفیوژ و لخته سازی با شیر بدون چربی نیز برای تغلیظ

ویروس‌ها از فاضلاب استفاده می‌شود [۱۰]. با این حال، اطلاعات محدودی در مورد کارایی بازیابی ویروس‌های پوشش‌دار، از جمله کروناویروس‌ها، با روش‌های موجود تغلیظ در دسترس است. شواهد علمی کمی برای قضاوت در مورد کارآمدی روش‌های موجود تغلیظ ویروس SARS-CoV-2 پوشش‌دار در دسترس است. به‌هرحال، تغلیظ ویروس برای افزایش احتمال تشخیص SARS-CoV-2 در فاضلاب ضروری است و تحقیقات بیشتری برای ارزیابی کارایی بازیابی نیاز است. به دلیل رعایت نکات مربوط به ایمنی زیستی، در ارزیابی کارآمدی روش‌های تغلیظ، از سویه‌های با ویرولانس کمتر کرونا ویروس مانند کروناویروس کلاسیک انسانی یا MHV[1] و یا فاژ Φ6 سودوموناس به‌عنوان مدلSARS-CoV-2 استفاده می‌شود. در مطالعات اخیرِ کشورهای استرالیا، فرانسه، هلند و ایالات متحده گزارش شده است که RNAی SARS-CoV-2 با روش‌های تغلیظ مختلف، مانند اولترافیلتراسیون، رسوبPEG و جذب غشایی با بار الکتریکی منفی به خوبی از فاضلاب تغلیظ و استخراج RNA با موفقیت انجام شد [۸، ۱۰، ۱۴، ۱۶].

حجم آب یا فاضلاب یکی از عوامل مهمی است که می‌تواند بر نتایج تغلیظ و تشخیص ویروس تأثیر بگذارد. به طور معمول، حجم حدود ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه‌های فاضلاب تصفیه نشده برای تغلیظ و تشخیص ویروس‌های روده ای مناسب است [۲۳]. مطالعات اولیه تشخیص SARS-CoV-2 در فاضلاب تغلیظ شده با حجم ۲۰۰ میلی لیتر از فاضلاب خام را گزارش کردند. با این حال، ممکن است برای شناسایی SARS-CoV-2 در مناطقی که بیماری کووید-۱۹ در جامعه شیوع کمتری دارد، حجم بیشتری از فاضلاب تغلیظ شود . در حال حاضر، تشخیص SARS-CoV-2 به روش RT-qPCR[2] متکی است [۲۵، ۲۶]. کورمن و همکاران (۲۰۲۰) روشqPCR مبتنی بر TaqMan (با هدف ژن‌های RdRp[3])، ژنهای پوششی (E) و ژن نوکلئوکپسید (N) با قدر مطلق تشخیصی به ترتیب ۳/۸، ۵/۲ و ۸/۳ کپی RNA در هر واکنش را معرفی کردند [۲۵].

---

۱. Mouse Hepatitis Virus

۲. Reverse Transcription quantitative Real-time PCR

۳. RNA-dependent RNA polymerase

ژن نوکلئوکپسید N پرکاربردترین هدف ژنی درRT-qPCR است. شیراتو و همکاران (۲۰۲۰) با استفاده از تکنیک RT-qPCR برای ژن N تشخیص حداقل ۵ نسخه RNA در هر واکنش را گزارش کردند [۲۶].

برخلاف نمونه‌های بالینی، زمانی که SARS-CoV-2 در فاضلاب با غلظت‌های کم ویروس ناشی از رقیق‌سازی و شیوع کم کووید-۱۹ آزمایش می‌شوند، حد تشخیص(LOD[۴]) کمتر است. متأسفانه، داده‌های مربوط به حدتشخیص برای بسیاری از آزمون‌های RT-qPCR در دسترس نیست. این موضوع به این دلیل است که این روش‌ها برای استفاده در غربالگری سریع نمونه‌های بالینی طراحی شده‌اند. تکنیک RT-qPCR برای کپی‌های کمتر از ۱۰ در هر واکنش، می‌تواند برای غربالگری ویروس-SARS-CoV-2در نمونه‌های فاضلاب مفید باشد [۲۵، ۲۶]. برای تایید تشخیص RNAی-SARS-CoV-2در فاضلاب با استفاده از تکنیک RT-qPCR، استفاده از کنترل مثبت بسیار توصیه می‌شود. این بدان دلیل است که تکنیکRT-qPCR موجود، برای تشخیص نمونه‌های بالینی راه اندازی شده اند که ممکن است تفسیر نتایج آن برای نمونه‌های محیطی متفاوت باشد. برخی از مطالعات اخیر، حضور و تشخیص SARS-CoV-2 در فاضلاب را به روش RT-qPCR گزارش کردند [۶، ۱۰، ۱۶]. موضوع مهم در کاربرد روش‌های مبتنی بر مولکولی، از جملهRT-qPCR، برای نمونه‌های فاضلاب، مهار واکنش PCR در طول فرآیند تشخیص و شناسایی است. توصیه شده است که جهت اطمینان از انجام آزمون‌ها و نتایج آن، ضروری است کنترل‌های ویروسی لازم در آزمون گنجانده شود [۲۳]. سه نوع ویروس به عنوان کنترل فرآیند واکنش، بسته به مرحله تلقیح ویروس، پیشنهاد می‌شود: (۱) کنترل کل فرآیند که باید قبل از تغلیظ ویروس در نمونه آب انجام شوند; (۲) کنترل فرآیند مولکولی که باید قبل از استخراج اسید نوکلئیک و به موازات آن روی ویروس‌های مدل انجام شوند و (۳) کنترل‌های RT-qPCRکه باید قبل از RT-qPCR انجام شوند. حداقل یکی از این کنترل‌های فرآیند برای جلوگیری از نتایج منفی کاذب و برای روش‌های تغلیظ با راندمان بازیابی پایین

۴. Limit of Detection

ویروس، توصیه می‌شود و گاه ممکن است آزمون نیاز به تکرار و تجزیه و تحلیل مجدد داشته باشند [۲۷]. برای داشتن یک کنترل فرآیند قابل اعتماد، بهتر است ویروسی را انتخاب کنید که از نظر ژنتیکی به ویروس هدف نزدیک باشد و/یا ویژگی‌های فیزیکی مشابه با آن داشته باشد. کروناویروس‌های حیوانی با بیماری‌زایی کمتر مانند MHV کنترل‌های فرآیندی ایده آلی برای SARS-CoV-2 هستند. ضمناً استفاده از کنترل‌های فرآیند مانند نورویروس موشی و منگوویروس که هر دو ویروس‌های RNAدار تک رشته‌ای هستند، می‌تواند قابل قبول باشد.

## بقا و غیرفعال شدن SARS-CoV-2 در محیط‌های آب و فاضلاب

شدت و حدت خطرات تهدیدکننده سلامتی انسان وابسته به غیرفعال شدن SARS-CoV-2 در محیط‌های آبی است. آگاهی از غیرفعال شدن SARS-CoV-2 و RNA آن، معیار کنترلی مناسبی است و الزامات تصفیه فاضلاب را بهبود می‌بخشد. اطلاعات کمی در مورد ماندگاری کروناویروس‌ها در بسترهای فاضلاب و آب وجود دارد. گزارش‌های WHOنشان می‌دهد که هیچ مدرکی در مورد بقای SARS-CoV-2 در فاضلاب یا آب آشامیدنی وجود ندارد. این احتمال وجود دارد که کروناویروس‌های پوشش دار نسبت به اکثر ویروس‌های روده ای بدون پوشش در محیط پایداری کمتری داشته و نسبت به کلر، pH و دما حساس تر باشند [۲۸]. بنابراین، فرآیندهای متداول تصفیه فاضلاب، باید بتواند SARS-CoV-2 را غیرفعال کند و به‌نظر می‌رسد مراحل متعددی که در تصفیه خانه‌های آب آشامیدنی استفاده می‌شوند، برای حذفSARS-CoV-2 به سطح غیرقابل شناسایی و کم خطر کافی باشند. با این حال، گزارش‌های معدودی نشان می‌دهد که کروناویروس در محیط‌های آبی، بسته به دما و سایر عوامل فیزیکی و شیمیایی می‌تواند برای روزها تا هفته‌ها به‌صورت عفونی باقی بماند. بنابراین، تعیین ماندگاری-SARS CoV-2در فاضلاب و آب‌های محیطی با استفاده از آزمایش‌های کشت مولکولی و سلولی بسیار مهم است. اگر موضوع ایمنی زیستی در نظر گرفته شود، می‌توان از ویروس‌های پوشش‌دار دیگری مانند کروناویروس انسانی با بیماری‌زایی کم، MHV، یا

فاژ Φ6 سودوموناس استفاده کرد. دورمالن و همکاران (۲۰۲۰) پایداری SARS-CoV-2 را در مقایسه با SARS-CoV ارزیابی کردند. بقای SARS-CoV-2 از ۰/۸ ساعت روی سطوح مسی تا ۶/۸ ساعت روی سطوح پلاستیکی متغیر بود. همچنین، نویسندگان پایداری محیطی این دو ویروس را مقایسه کردند [۲۹]. شین و همکاران (۲۰۲۰) نیز در مورد ماندگاری و گندزدایی SARS-CoV-2 گزارش دادند که وابستگی مستقیم دمای در غیرفعال‌سازی و حذف سریع ویروس با استفاده از ترکیبات سفیدکننده، اتانول، بنزیل‌الکونیوم کلرید، بتادین و کلروکسی لنول وجود دارد [۳۰]. به طور کلی، این نتایج معدود نشان می‌دهد که SARS- CoV-2 به‌سرعت با افزایش دما و مصرف ضدعفونی‌کننده‌های رایج غیرفعال می‌شود.

## نتیجه‌گیری

در حال حاضر، خلأهای قابل توجهی در مورد امکان انتقال SARS-CoV-2 از طریق فاضلاب وجود دارد. بقا و دوامSARS-CoV-2 در محیط‌های مختلف از جمله فاضلاب و آب، دقیقاً بررسی نشده است. داده‌های اخیر نشان می‌دهد که SARS-CoV-2 مشابه با SARS-CoVدر ذرات معلق در هوا و روی سطوح، پایدار است. با استفاده از روش‌های مشابه، پایداریSARS-CoV-2 در محیط‌های مختلف آبی باید بررسی شود و ماندگاری آن در فاضلاب، آب‌های سطحی و محیطی در مناطق حاره ای و گرمسیری، مناظق جنب حاره ای و نیمه‌گرمسیری و مناظق معتدله تعیین شود. علاوه بر این، ماندگاری و دوام SARS-CoV-2 در فاضلاب، و مکانیسم‌های غیرفعال‌سازی آن با استفاده از پرتوی ماورای بنفش، نور خورشید و استفاده از مواد گندزدا باید بررسی شود و به یک دستورالعمل استاندارد واحد در تغلیظ ویروس، آزمایش‌های مولکولی PCR، ویروس‌های کنترل فرآیند، بازیابی و تشخیص SARS-CoV-2 در نمونه‌های آب‌های محیطی رسید. نظارت بر فاضلاب امر بسیار مهمی است؛ زیرا می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در مورد شیوع عفونت‌ها در جامعه ارائه دهد. نظارت مستمر فاضلاب می‌تواند علائم هشدار دهنده اولیه را ارائه دهد و به طور بالقوه بیماری‌های تشخیص داده نشده یا پیش رو را در سطح

جمعیت شناسایی کند و متولیان امر بهداشت عمـومی را در مـورد شـیوع بیمـاری‌هـای ویروسی موجود یا آتی آگاه می‌کند.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه الزهرا(س)، همچنین گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم زیستی دانشگاه الزهرا (س) تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 2020; 382: 727–733
2. Chen L, Wang C, Wang Y, Wang X, Xiao Y, Sun Q, Liu H, Zhu F, Ma C, Yan L, Yang M, Han J, Xu W, Tan W, Peng X, Jin Q, Wu G, Qin C. 2020b. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. 2020; bioRx
3. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. J Am Med Assoc 2020; 3–4
4. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, Li T, Chen Q. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. Int J Oral Sci 2020; 12: 1–5.
5. Song Y, Liu P, Shi X, Chu Y, Zhang J, Xia J, Gao X, Qu T, Wang M. SARS-CoV-2 induced diarrhoea as onset symptom in patient with COVID-19. Gut 2020; 69 (6): 1143–1144
6. Xiao F, Tang M, Zheng X, Li C, He J. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. 2020; medRxiv
7. Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. Lancet Infect Dis 2020; 20: 411–412
8. 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;1253: 20–21
9. Tang A, Tong ZD, Wang HL, Dai YX, Li KF, Liu JN, Wu WJ, Yuan C, Yu ML, Li P, Yan JB, 2020a. Detection of novel coronavirus by RT-PCR in stool specimen from asymptomatic child, China. Emerg Infect Dis 2020; 26: 1–5
10. Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, Brien JWO, Choi PM, Kitajima M, Simpson SL, Li J, Tscharke B, Verhagen R, Smith WJM, Zaugg J,

Dierens L, Hugenholtz P, Thomas KV, 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. 2020; Sci Total Environ

11. Ye Y, Ellenberg RM, Graham KE, Wigginton KR.Survivability, partitioning, and recovery of enveloped viruses in untreated municipal wastewater. Environ Sci Technol 2016; 50: 5077–5085.
12. Wang XW, Li J, Guo T, Zhen B, Kong Q, Yi B, Li Z, Song N, Jin M, Xiao W, Zhu X, Gu C, Yin J, Wei W, Yao W, Liu C, Li J, Ou G, Wang M, Fang T, Wang G, Qiu Y, Wu H, Chao F, Li J. Concentration and detection of SARS coronavirus in 18 M. Kitajima et al. / Science of the Total Environment 739 (2020) 139076 sewages from Xiao Tang Shan hospital and the 309th Hospital of the Chinese People's liberation Army. Water Sci Technol 2005; 52: 213–221
13. McKinney KR, Gong YY, Lewis TG. Environmental transmission of SARS at Amoy Gardens. J Environ Health 2006; 68: 26–30
14. Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R. Presence of SARS-Coronavirus-2 in Sewage. 2020; medRxiv
15. Wurtzer S, Marechal V, Mouchel J, Moulin L. Time Course Quantitative Detection of SARS-CoV-2 in Parisian Wastewaters Correlates with COVID-19 Confirmed Cases. medRxiv 2020; 10–13
16. Nemudryi A, Nemudraia A, Surya K, Wiegand T, Buyukyoruk M, Wilkinson R, Wiedenheft B, Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV2 in municipal wastewater. 2020; medRxiv
17. La Rosa G, Muscillo M. Molecular detection of viruses in water and sewage. In: Cook, N. (Ed.), Viruses in Food and Water: Risks, Surveillance and Control. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, 2013; 97–125
18. Xagoraraki I, O'Brien E. Wastewater-based epidemiology for early detection of viral outbreaks. In: O'Bannon, D. (Ed.), Women in Water Quality. Springer Nature Switzerland, 2020; pp. 75–97.
19. Bibby Kyle et al. Metagenomics and the development of viral water quality tools. npj Clean Water 2019; 2 (1): 1–13
20. Fernandez-Cassi X, Timoneda N, Martínez-Puchol S, Rusiñol M, Rodriguez-Manzano J, Figuerola N, Bofill-Mas S, Abril JF, Girones R. Metagenomics for the study of viruses in urban sewage as a tool for public health surveillance. Sci Total Environ 2018; 618: 870–880
21. Murakami M, Hata A, Honda R, Watanabe T. Wastewater-based epidemiology can overcome representativeness and stigma issues related to COVID-19. Environ Sci Technol 2020; 20045880
22. Lodder W, de Roda Husman A. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. Lancet Gastroenterol Hepatol 2020; 1253: 30087
23. Haramoto E, Kitajima M, Hata A, Torrey JR, Masago Y, Sano D, Katayama H.

A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. Water Res 2018; 135: 168–186
24. Ikner LA, Gerba CP, Bright KR. Concentration and recovery of viruses from water: a comprehensive review. Food Environ Virol 2012; 4: 41–67
25. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Schmidt ML, Mulders DG, Haagmans BL, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, Goderski G, Romette JL, Ellis J, Zambon M, Peiris M, Goossens H, Reusken C, Koopmans MP, Drosten C. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill 2020; 25
26. Shirato K, Nao N, Katano H, Takayama I, Saito S, Kato F, Katoh H, Sakata M, Nakatsu Y, Mori Y, Kageyama T, Matsuyama S, Takeda M. Development of genetic diagnostic methods for novel coronavirus 2019 (nCoV-2019) in Japan. Jpn J Infect Dis 2020
27. WHO, Statement on the Second Meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee Regarding the Outbreak of Novel Coronavirus (2019-nCoV). 2020
28. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris D, Holbrook M, Gamble A, Williamson B, Tamin A, Harcourt J, Thornburg N, Gerber S, Lloyd-Smith J, de Wit E, Munster V. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV. N Engl J Med 2020; 382: 1564–1567
29. Chin AWH, Chu JTS, Perera MRA, Hui KPY, Yen HL, Chan MCW, Peiris M, Poon LLM. Stability of SARS-CoV-2 in Different Environmental Conditions. medRxiv 2020; 2–5
30. Hart OE, Halden RU. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: feasibility, economy, opportunities and challenges. Sci Total Environ 2020