



بررسی حضور SARS-CoV-2 در شبکه جمع آوری و تصفیه خانه فاضلاب شهر شاهرود

سعید ناظمی^{۱*}، علی اکبر رودباری^۲، محبوبه داودی^۳، بهروز میرزائی^۴، پیراسته نوروزی^۵، شهربانو گلی^۶، مهدی میرزایی^۷

- ۱- مرکز رشد فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
- ۲- دپارتمان مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
- ۳- مرکز رشد فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
- ۴- مرکز رشد فناوری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
- ۵- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
- ۶- دپارتمان اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
- ۷- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۳

چکیده

مقدمه: در سالین اخیر شیوع کرونا ویروس جدید با نام علمی SARS-CoV-2 در سرتاسر دنیا منجر به ایجاد یک بیماری عفونی جدید به نام کووید-۱۹ شده است. با توجه به اینکه برخی مطالعات وجود این ویروس را تا هفت ماه پس از عفونت در مدفوع و به تبع آن در فاضلاب نشان می‌دهد لذا بررسی وجود آن در فاضلاب می‌تواند کمک خوبی برای پی بردن به نحوه توزیع بیماری در مناطق مختلف شهر یا منطقه باشد. هدف از این مطالعه، بررسی حضور ویروس SARS-CoV-2 در نقاط مختلف شبکه جمع‌آوری و تصفیه‌خانه فاضلاب شهر شاهرود بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع توصیفی - تحلیلی بود و در آن، ۳۵ نمونه فاضلاب از نقاط مختلف شبکه جمع‌آوری فاضلاب (به صورت نمونه برداری هدفمند) و تصفیه‌خانه فاضلاب شاهرود برداشت شد. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه مرجع تأیید SARS-CoV-2 منتقل و به روش پلی اتیلن گلیکول (PEG) تغلیظ شدند سپس استخراج ژنوم ویروس از نمونه با کمک کیت‌های استخراج، انجام و سپس با کمک روش PCR این ژنوم ویروسی، تکثیر گردید تا حضور یا عدم حضور این ویروس بررسی شود.

نتایج: نتایج نشان داد که در ۱۱ نمونه از ۳۵ نمونه فاضلاب اخذ شده، ویروس کرونا وجود داشت و نمونه‌های برداشت شده از ورودی تصفیه‌خانه فاضلاب شهری در تمامی موارد مثبت بود. همچنین فقط در یک نمونه از نمونه‌های برداشت شده از خروجی دو تصفیه‌خانه فاضلاب شهری و بیمارستان امام حسین (ع) شاهرود، این ویروس مشاهده نشد و در بقیه نمونه‌ها وجود داشت. این در حالی است که فقط در یک نمونه از نمونه‌های برداشت شده از شبکه جمع‌آوری فاضلاب شهر شاهرود حضور ویروس کرونا تأیید شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به تأیید حضور ویروس کرونا در شبکه جمع‌آوری و تصفیه‌خانه فاضلاب، پایش منظم فاضلاب‌های شهری برای پیش‌بینی شیوع موج جدید بیماری در جامعه توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ویروس کرونا، فاضلاب، PCR، شاهرود.

*نویسنده مسئول: شاهرود، بلوار آزادی، مجتمع صدری، مرکز رشد فناوری سلامت، تلفن: ۰۲۲۳۲۳۵۰۰۰۶، نمایر: ۰۲۲۳۲۳۵۰۰۰۶، Email: nazemi@shmu.ac.i

ارجاع: ناظمی سعید، رودباری علی‌اکبر، داودی محبوبه، میرزائی بهروز، نوروزی پیراسته، گلی شهربانو، میرزایی مهدی. بررسی حضور SARS-CoV-2 در شبکه جمع‌آوری و تصفیه‌خانه فاضلاب شهر شاهرود. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۴۰۱؛ ۱۷(۴): ۲۴-۱۹.

مقدمه

کرونا ویروس‌ها خانواده بزرگی از ویروس‌های RNA دار هستند که شامل هفت ویروس انسانی می‌باشند (۱). آخرین ویروس‌شناسایی شده تحت عنوان کرونا ویروس جدید یا کرونا ویروس سندروم تنفسی حاد شدید ۲- (SARS-Cov-2) که یک ویروس غلاف‌دار و ژنومی از جنس RNA تک رشته‌ای که یک دم پلی A در انتهای ۳ دارد، باعث بیماری کووید-۱۹ می‌شود (۲ و ۳). کرونا ویروس جدید برای اولین بار در شهر ووهان چین مشاهده شد و تا به امروز در تمام جهان گسترش یافته است (۴). سازمان بهداشت جهانی در ۱۱ مارس ۲۰۲۰ شیوع بیماری کووید ۱۹ را یک هشدار بین‌المللی اعلام کرد (۵). یکی از مهمترین علایم این بیماری عوارض گوارشی مثل: درد شکمی و اسهال می‌باشد (۱). در مطالعات مختلف ویروس کرونا در مدفوع بیماران کووید-۱۹ مشاهده شده است (۶). ویروس کرونا می‌تواند تا مدت‌ها در نمونه مدفوع مثبت باشد و وارد فاضلاب شود حتی زمانی که نمونه‌های دستگاه تنفسی منفی می‌شوند (۷).

اپیدمیولوژی مبتنی بر فاضلاب (WBE) به‌عنوان یک ابزار کارآمد و حساس برای اندازه‌گیری سطح ویروس در جمعیت عمل می‌کند و علایم هشداردهنده اولیه را قبل از همه‌گیری احتمالی در آینده ارائه می‌دهد (۸). WHO از سال ۱۹۷۷ بررسی ویروس‌های مختلف را در فاضلاب شهری را به‌عنوان یکی از عوامل موفقیت یا عدم موفقیت برنامه‌های واکسیناسیون خود در نظر گرفته است (۹). بنابراین WBE می‌تواند به‌عنوان سیستم تشخیص زودهنگام و تعیین مقیاس شیوع COVID-19 به کار گرفته شود. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مبتنی بر اسید نوکلئیک (PCR) روش تشخیص اصلی برای نمونه‌های بالینی و همچنین برای تعیین حضور کرونا ویروس در فاضلاب می‌باشد (۱۰). اولین گزارشات در مورد حضور ویروس کرونا در فاضلاب با استفاده از روش PCR مربوط به کشورهای آمریکا (۱۱ و ۱۲) ایتالیا (۱۳)، استرالیا (۱۴)، اسپانیا (۱۵) هلند (۱۶) ژاپن (۱۷) فرانسه (۱۸) و آلمان (۱۹) بود. این روش بر این واقعیت استوار است که درصد بالایی از بیماران آلوده به ویروس کرونا، حتی موارد بدون علامت، دارای RNA ویروسی قابل تشخیص هستند (۲۰). مزیت رویکرد WBE برای تعیین حضور ویروس کرونا نسبت به آزمایش عموم مردم این است که غلظت ویروس کرونا در فاضلاب نشان‌دهنده وضعیت کلی منطقه می‌باشد (۲۱). در حالی که تعداد موارد کووید مثبت فقط شامل افراد دارای علامت که برای آزمایش مراجعه کرده‌اند، می‌باشد. بنابراین با تعیین وجود ویروس کرونا در فاضلاب می‌توان از وضعیت شیوع بیماری در مناطق مختلف مطلع شد. لذا این مطالعه با هدف تعیین وجود کرونا ویروس در فاضلاب شهر شاهرود انجام شد.

مواد و روش‌ها

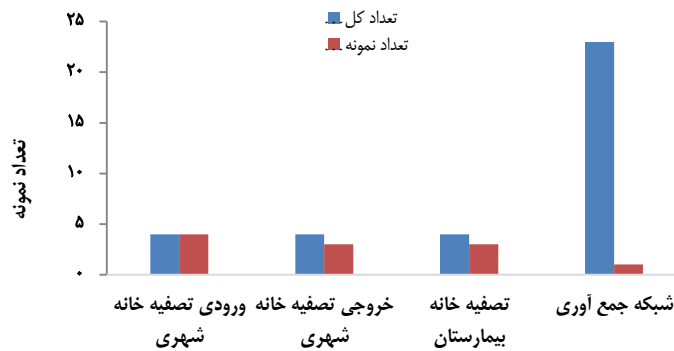
با همکاری اداره آب و فاضلاب شاهرود و پیمانکار مربوطه، در فاصله زمانی شهریور تا بهمن ماه سال ۱۳۹۹، از شبکه جمع‌آوری فاضلاب شهری و تصفیه‌خانه شاهرود تعداد ۳۵ نمونه فاضلاب با روش Grab Sampling مطابق با دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده، از مناطق دارای بیشترین آمار مثبت ویروس کرونا مطابق با اعلام دانشگاه برداشت شد. نمونه‌ها در بطری‌هایی با حجم ۳۰۰ سی‌سی با رعایت زنجیره سرد جهت بررسی وجود ویروس کرونا در فاضلاب به آزمایشگاه میکروبی شناسی آزمایشگاه جامع دانشگاه علوم پزشکی شاهرود تحویل داده شد. ظروف حاوی نمونه‌های فاضلاب به مدت ۳ ساعت به‌صورت ثابت در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار داده شد تا مایع‌رویی و رسوب فاضلاب از یکدیگر جدا و قابل تشخیص گردد. سپس مایع روماند به ظرف دیگر انتقال داده شد و رسوب با دور ۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و به میکروتیوب استریل منتقل گردید. سپس ۴۰۰ میلی‌لیتر از مایع روماند حاصل از سانتریفوژ مرحله اول به یک ارلن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری استریل انتقال داده شد و میزان ۱۳۳/۶ گرم بر لیتر پلی اتیلن گلیکول ۳۰٪، ۲۰ گرم بر لیتر دکستران ۲۰٪ و ۱۶ میلی‌لیتر NaCl 5 مولار به آن اضافه گردید. سپس ارلن حاوی ترکیبات یاد شده به مدت ۱ ساعت بر روی شیکر مغناطیسی قرار داده شد. محتویات ارلن به داخل یک قیف جداکننده ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شد. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، رسوب انتهایی خارج و لایه تشکیل شده بین دو فاز جمع‌آوری گردید (۲۲).

در این روش، از نمونه تیمار شده و تغلیظ شده به روش Pellet و روش استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) و دکستران به نسبت ۱ به ۱ مخلوط گردید. نمونه‌ها در دمای ۲۰ - درجه سلسیوس نگهداری شد. در هر سه روش تغلیظ مورد بررسی مایع تیمار شده روماند به‌صورت جداگانه به میکروتیوب‌های استریل منتقل و در دمای ۲۰ - درجه سلسیوس نگهداری شدند. در مرحله آخر به‌منظور از بین بردن باکتری‌ها و قارچ‌ها به هر ۴ میلی‌لیتر از نمونه‌های تغلیظ شده، یک میلی‌لیتر کلروفرم خالص اضافه و سپس در فریزر ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری گردید (۲۲). شناسایی کرونا ویروس‌ها با کیت تشخیص کووید ۱۹- با روش Taq Man Real Time PCR انجام گردید. این کیت تشخیصی شامل یک محلول حاوی پروب و پرایمر کنترل داخلی R(RNase P) می‌باشد (جدول ۱).

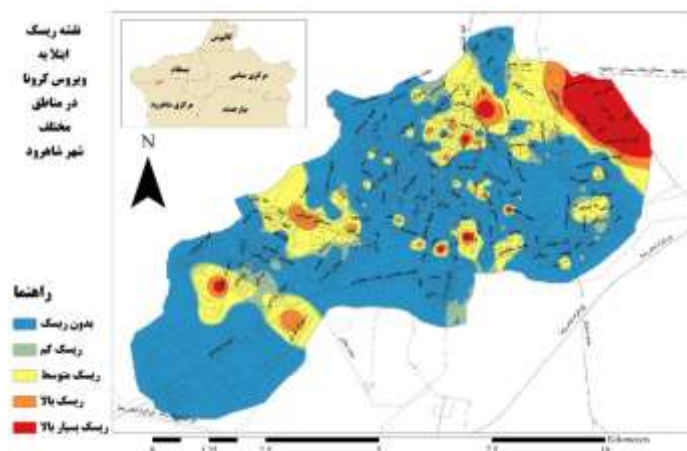
مثبت به محلول واکنش اضافه نمودیم. برای انجام آزمایش تیوپ‌ها را داخل دستگاه ترمال سایکلر قرار دادیم، برای تشخیص ویروس، کانال HEX(N gene) و FAM(RdRp region) را انتخاب کردیم. در انتها با تجزیه و تحلیل منحنی تکثیر کنترل داخلی ROX مقدار ct کمتر از ۴۰ مشاهده شد که صحت و دقت آزمایش را تأیید می‌کند. طبق راهنمای استفاده از کیت، برای نمونه‌هایی که یک منحنی S شکل تیپیکال در هر دو کانال FAM و HEX یا یکی از آنها رسم شد و ct نیز کمتر از ۴۰ بود به‌عنوان نمونه مثبت در نظر گرفته شد. در غیر این صورت نمونه‌ها از نظر وجود ویروس منفی بودند.

نتایج

از مجموع ۳۵ نمونه مورد بررسی، ۱۱ نمونه از نظر وجود ویروس کرونا مثبت بودند. نمونه‌های آلوده مربوط به ورودی تصفیه‌خانه شهری (۴ مورد) خروجی تصفیه‌خانه شهری (۳ مورد) خروجی تصفیه‌خانه بیمارستان امام حسین (ع) (۳ مورد) و شبکه جمع‌آوری (یک مورد) بودند (نمودار ۱). بیشترین موارد حضور ویروس کرونا مربوط به فصل تابستان (۳ مورد مثبت) بود (جدول ۲).



شکل ۱- فراوانی ویروس کرونای مشاهده شده در فاضلاب براساس محل نمونه‌گیری



شکل ۲- نقشه ریسک ابتلا به ویروس کرونا در مناطق مختلف شهر شاهروود

بر فاضلاب می‌تواند به‌عنوان ابزاری برای بررسی شیوع بیماری استفاده گردد.

با توجه به نتایج مطالعات استرالیا (۲۵) و ایتالیا (۱۳) که نشان داد نمونه‌های فاضلاب تقریباً سه هفته قبل از گزارش اولین مورد مثبت کرونا در این کشورها از نظر وجود ویروس کرونا مثبت بوده است. بنابراین پایش منظم فاضلاب شهری می‌تواند در رابطه با پیش‌بینی شیوع موج جدید بیماری در جامعه مفید باشد.

پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی میزان غلظت ویروس در فاضلاب اندازه‌گیری شود تا میزان کارایی تصفیه‌خانه‌ها در حذف ویروس کرونا مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شاهرود برای اجرای این مطالعه به شماره طرح ۹۹۷۱ تقدیر و تشکر می‌نماییم.

References

- Mardi P, Shojaeian S, Taherzadeh Ghahfarokhi N, Molaverdi G, Amiri Roudy M, Salahshour A, et al. SARS-CoV-2 and COVID-19, evidence from a literature review: review article. *Tehran Univ Med J* 2021;78:712-25.
- Del Rio C, Malani PN. 2019 novel coronavirus—important information for clinicians. *JAMA* 2020;323:1039-40.
- Kahn JS, McIntosh K. History and recent advances in coronavirus discovery. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:S223-S7. doi: 10.1097/01.inf.0000188166.17324.60
- Cheng ZJ, Shan J. 2019 Novel coronavirus: where we are and what we know. *Infection* 2020;48:155-63. doi: 10.1007/s15010-020-01401-y
- Sahu KK, Lal A, Mishra AK. COVID-2019 and pregnancy: a plea for transparent reporting of all cases. *Physiol Rev.* 2020;99:951. doi: 10.1111/aogs.13850
- Lescure F-X, Bouadma L, Nguyen D, Parisey M, Wicky P-H, Behillil S, et al. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect Dis* 2020;20:697-706. doi: 10.1016/s1473-3099(20)30200-0
- Ling Y, Xu S-B, Lin Y-X, Tian D, Zhu Z-Q, Dai F-H, et al. Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients. *Chin Med J (Engl)* 2020;133:1039. doi: 10.1097/cm9.0000000000000774
- Arora S, Nag A, Sethi J, Rajvanshi J, Saxena S, Shrivastava SK, et al. Sewage surveillance for the presence of SARS-CoV-2 genome as a useful wastewater based epidemiology (WBE) tracking tool in India. *Water Sci Technol* 2020;82:2823-36. doi: 10.2166/wst.2020.540
- Naseri S, Alimohammadi M. Survey of Presence of SARS-CoV-2 virus in urban raw and treated wastewater in cities of Tehran, Anzali and Qom. *sph.tums.ac.ir* 2020.
- Barceló D. Wastewater-based epidemiology to monitor COVID-19 outbreak: present and future diagnostic methods to be in your radar. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* 2020;2:100042. doi: 10.1016/j.csee.2020.100042
- Sherchan SP, Shahin S, Ward LM, Tandukar S, Aw TG, Schmitz B, et al. First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: a study in Louisiana, USA. *Sci Total Environ.* 2020;743:140621. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140621

جدول ۲- فراوانی ویروس کرونای مشاهده شده براساس تاریخ نمونه‌برداری

تاریخ نمونه‌برداری	تعداد کل نمونه‌ها	تعداد موارد مثبت
شهریورماه	۶	۳
مهرماه	۱۰	۳
آبان ماه	۹	۳
بهمن ماه	۱۰	۲
مجموع	۳۵	۱۱

بحث

در مطالعه حاضر در ۱۱ نمونه از ۳۵ نمونه به‌صورت قطعی وجود ویروس کرونا تأیید شد. مطالعه لاروزا و همکاران در ایتالیا نشان داد که در ۶ نمونه از ۱۲ نمونه فاضلاب کرونا ویروس مشاهده شده است (۱۳). همچنین در مطالعه نمودری و همکاران، تمامی نمونه‌های فاضلاب یک تصفیه‌خانه فاضلاب در آمریکا آلوده به ویروس کرونا بودند (۲۳). از بین ۲۴ نمونه فاضلاب خام تصفیه‌خانه اصفهان ۹ نمونه از نظر وجود ویروس کرونا تأیید شد (۲۴).

در این مطالعه از نمونه‌های تغلیظ شده به روش استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) استفاده شد که در مطالعه لیو و همکاران به‌عنوان یکی از دو روش مفید و کاربردی با کارایی بالای تغلیظ ویروس کرونا جدید از نمونه‌های فاضلاب معرفی شده است (۲۵).

در مطالعه ریمولدی و همکاران در ایتالیا RNA ویروس کرونا در فاضلاب خام مشاهده شده ولی در فاضلاب تصفیه شده تشخیص داده نشده است که کارایی خوب فرآیند تصفیه را نشان می‌دهد (۲۶) در حالیکه در مطالعه حاضر در ورودی و خروجی تصفیه‌خانه شهری و بیمارستان وجود ویروس کرونا تأیید شده است. همچنین در مطالعه ناصری و همکاران در نوبت اول نمونه‌برداری، ویروس کرونا در ورودی و خروجی تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهرهای تهران، بندر انزلی و قم مشاهده شده است (۹). دلیل نسبت بالای موارد مثبت فاضلاب شهری به فاضلاب بیمارستان، استفاده از حجم بالای گندزداها در بخش رختشویخانه بیمارستان می‌باشد که باعث تجزیه ویروس‌ها می‌شود.

با توجه به شکل ۲، ریسک ابتلا به ویروس کرونا در مناطق اطراف بیمارستان بسیار بالا می‌باشد که نتایج مثبت آزمایشات نمونه‌های فاضلاب این مناطق بیانگر این موضوع است که با مطالعه وستاوس که بیان کرده بار ژن در فاضلاب، با مقدار تجمعی و حاد موارد بیماری کووید-۱۹ گزارش شده در حوزه‌ها، مرتبط است، مطابقت دارد. بنابراین دلیل تعداد کم نمونه‌های مثبت فاضلاب از نظر کرونا ویروس، می‌تواند کاهش موارد ابتلا به کووید-۱۹ در بازه زمانی نمونه‌برداری از شبکه جمع‌آوری فاضلاب باشد و به‌خاطر ماندگاری طولانی مدت ویروس در فاضلاب، حضور کرونا ویروس در تمامی نمونه‌های ورودی فاضلاب تأیید شده است.

حضور کرونا ویروس در نمونه‌های فاضلاب جمع‌آوری شده قطعاً منعکس‌کننده عفونت در این مناطق است بنابراین اپیدمیولوژی مبتنی

12. Wu F, Xiao A, Zhang J, Moniz K, Endo N, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater foreshadow dynamics and clinical presentation of new COVID-19 cases. . medRxiv Preprint. 2020. doi: [10.1101/2020.06.15.20117747](https://doi.org/10.1101/2020.06.15.20117747)
13. La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Ferraro GB, Veneri C, Bonadonna L, et al. FIRST DETECTION OF SARS-COV-2 IN UNTREATED WASTEWATERS IN ITALY. *Sci Total Environ* 2020;2020.04.25.20079830. doi: [10.1101/2020.04.25.20079830](https://doi.org/10.1101/2020.04.25.20079830)
14. 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;728:138764. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.138764](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764)
15. Randazzo W, Truchado P, Cuevas-Ferrando E, Simón P, Allende A, Sánchez G. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Res* 2020;181:115942. doi: [10.1016/j.watres.2020.115942](https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942)
16. Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R, Brouwer A. Presence of SARS-Coronavirus-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;7:511-6. doi: [10.1021/acs.estlett.0c00357](https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357)
17. Haramoto E, Malla B, Thakali O, Kitajima M. First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. *Sci Total Environ* 2020;737:140405. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.140405](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140405)
18. Wurtzer S, Marechal V, Mouchel J-M, Maday Y, Teyssou R, Richard E, et al. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *Euro Surveill* 2020. doi: [10.1101/2020.04.12.20062679](https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679)
19. Westhaus S, Weber F-A, Schiwy S, Linnemann V, Brinkmann M, Widera M, et al. Detection of SARS-CoV-2 in raw and treated wastewater in Germany—suitability for COVID-19 surveillance and potential transmission risks. *Sci Total Environ* 2021;751:141750. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.141750](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141750)
20. Foladori P, Cutrupi F, Segata N, Manara S, Pinto F, Malpei F, et al. SARS-CoV-2 from faeces to wastewater treatment: what do we know? A review. *Sci Total Environ* 2020;743:140444. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.140444](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140444)
21. Murakami M, Hata A, Honda R, Watanabe T. Letter to the editor: wastewater-based epidemiology can overcome representativeness and stigma issues related to COVID-19. *Environ Sci Technol* 2020;54:5311. doi: [10.1021/acs.est.0c02172](https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02172)
22. Organization WH. Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. World Health Organization, 2003.
23. Nemudryi A, Nemudraia A, Wiegand T, Surya K, Buyukyoruk M, Cicha C, et al. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *Cell Rep Med* 2020;1:100098. doi: [10.1016/j.xcrm.2020.100098](https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100098)
24. Gholipour SR D, Nikaeen M. Presence of coronavirus, enterovirus and adenovirus in municipal wastewater as indicators of the prevalence of associated viral infections in the community. *Jmums* 2021;31:44-54.
25. Lu D, Huang Z, Luo J, Zhang X, Sha S. Primary concentration—The critical step in implementing the wastewater based epidemiology for the COVID-19 pandemic: A mini-review. *Sci Total Environ* 2020;747:141245. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.141245](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141245)
26. Rimoldi SG, Stefani F, Gigantiello A, Polesello S, Comandatore F, Mileto D, et al. Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. *Sci Total Environ* 2020;744:140911. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.140911](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140911)



Investigation of the Presence of Coronavirus in Shahroud City Wastewater Collection Network and Treatment Plant

Saeid Nazemi (Ph.D.)^{*1}, Ali Akbar Roudbari (Ph.D.)², Mahboubeh Davoudi (M.Sc.)³, Behroz Mirzaei (M.Sc.)⁴, Pirasteh Norouzi (M.Sc.)⁵, Shahrbanu Goli (Ph.D.)⁶, Mehdi Mirzaei (Ph.D.)⁷

- 1- Health Technology Incubator Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
- 2- Dept. of Environmental Health Engineering. School of Public Health, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
- 3- Health Technology Incubator Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
- 4- Health Technology Incubator Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
- 5- School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
- 6- Dept of Epidemiology. School of Public Health, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
- 7- School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 9 March 2022, Accepted: 24 June 2022

Abstract:

Introduction: In recent years, an outbreak of a new coronavirus, scientifically known as SARS-CoV-2, has led to a worldwide new infectious disease called Covid-19. Based on some reports, this virus stays after infection in the feces and consequently in the wastewater up to seven months, so examining its presence in the wastewater can be useful to understand how the disease is distributed in different parts of the city or region. This study aimed to investigate the presence of the SARS-CoV-2 virus in different parts of the Shahroud city wastewater collection network and treatment plant.

Methods: The 35 wastewater samples were collected from different parts of the wastewater collection network and wastewater treatment plant of Shahroud city. The samples were immediately transferred to the SARS-CoV-2 reference laboratory and concentrated by the polyethylene glycol (PEG) method. After extraction of the virus genome, the viral genome was amplified to check the presence of this virus by PCR method.

Results: The results showed that 11 of the 35 wastewater collected samples were positive. All samples taken from the influent of the municipal wastewater treatment plant were positive. Also, except for one, in all of the samples taken from the effluent of the municipal wastewater treatment plant and Imam Hossein (AS) Hospital wastewater plant, coronavirus was observed. However, only one sample taken from the wastewater collection network of Shahroud city was positive.

Conclusion: Due to the confirmation of the presence of Coronavirus in the wastewater collection network and treatment plant, regular monitoring of municipal wastewater is recommended to predict the spread of a new wave of disease in the community.

Keywords: Corona virus, Wastewater, PCR, Shahroud.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: S. Nazemi, Email: nazemi@shmu.ac.ir

Citation: Nazemi S, Roudbari AA, Davoudi M, Mirzaei B, Norouzi P, Goli Sh, Mirzaei M. Investigation of the presence of coronavirus in shahroud city wastewater collection network and treatment plant. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2023;17(4):19-24.