污水监测新型冠状病毒辅助抗疫

张彤^{1*}, 徐浩光²

1. 香港大学土木工程系环境微生物组工程与技术实验室, 香港;

2. 香港特别行政区政府环境保护署, 香港

* 联系人, E-mail: zhangt@hku.hk

近200年来, 城市化是人类历史的一个重要进程. 从英国的工业革命开始, 城市化给人们带来了各种生活便利和发展机会, 同时也带来公共卫生和环境污染等问题. 城市化初期传染病的流行曾快速增加了人口死亡率, 这最终在公共卫生医生和土木工程师的合作下, 通过大规模普及污水管网减少人群和病原菌的接触而得到较大改善. 其后, 污水中各种污染物也在环境工程师的持续努力下, 得到逐步的解决. 在今天, 完善的污水收集和处理系统是城市基础建设的必要组成部分, 发挥着重要作用. 与抗生素和疫苗一样, 水处理(包括污水和给水)也为人类平均寿命在20世纪延长30年作出了重要贡献.

现在, 人们逐渐认识到城市污水收集和处理系统不仅是保护人类健康的重要工程设施, 更可以作为城市人群健康状况和传染病(例如新型冠状病毒肺炎, 简称新冠肺炎)发展趋势的重要信息来源. 我们服用的各种药物和侵入人体的各种病菌在排出体外后, 会随污水进入城市污水管网. 早在20年前就有科学家提出, 通过污水监测来调查一些非法药物在不同城市和一个城市不同区域的使用情况, 也有些地方通过检测污水来了解小儿麻痹症病毒是否还在社区内流行. 近年来, 还有一些研究团队通过污水调查研究各国和不同城市抗生素使用, 以及抗性细菌与抗性基因的现状和历史变化.

1 污水监测新型冠状病毒在香港的实践

新冠肺炎疫情暴发后, 国内外都进行了一些利用污水检测分析污水中的新型冠状病毒(SARS-CoV-2, 简称新冠病毒)来辅助抗疫的研究和实践. 除了一些方法学的研究外, 这些工作主要围绕如何利用污水中新冠病毒的检测来监测新冠肺炎在社区暴发的情况, 并根据污水中新冠病毒的信号采取后续的公共卫生管控行动和措施. 在这方面, 新加坡、澳大利亚、荷兰、瑞士等国家都有一些应用的实例^[1-4]. 而香港作为人口高度密集的超大城市、人员来往频繁的国际交通枢纽, 在利用污水监测辅助抗疫上的探索和经验, 对于污水流行病学的方法学发展、技术平台的搭建以及未来智慧城市建设都有一定的借鉴意义.

香港大学环境工程和公共卫生的跨学科团队^[5], 在香港特别行政区政府相关部门的大力支持和配合下, 首先在实验室

张彤 香港大学土木工程系讲座教授, 环境工程研究中心主任. 研究领域为环境微生物组工程与技术、抗生素抗性基因及致病菌检测、污水生物处理、污水流行病学等.

进行方法研发, 再探索小规模的小区范围的检测, 进而协助香港特区政府建立城市污水监测系统. 现在, 香港已经实现全港范围的新冠病毒常规污水监测, 为社区公共卫生防控监测提供早期预警信息, 亦成为采取后续防疫措施的重要依据.

2020年10月~2021年6月, 研究人员已在香港不同地区的污水收集系统中采集了近5000个生活污水样本, 进行新冠病毒核酸检测. 研究表明, 污水监测可以应用在以下几个方面. (1) 提供疫情预警信号. 研究者从测试数据中发现, 污水中检出病毒的整体上升趋势与2020年11月中旬以来的第4波疫情暴发非常吻合. 由此推断, 污水中的病毒检出情况可反映社区中病毒存在的水平, 作为医学检测之外的补充信息, 为社区疫情提供预警信号. (2) 追踪社区疫情发展. 在病毒流行期间, 不同区域的污水中病毒检出情况的变化, 可用来评估疫情在社区内的传播趋势. (3) 辅助监察社区疫情. 因应香港第4波疫情的发展, 研究者灵活地调整监测计划, 在一些出现感染群组的屋苑及社区进行污水采样分析, 为医学测试提供辅助资料.

这个污水监测系统在新冠病毒暴发期可以灵活调整策略集中在热点地区, 配合其他防控措施查找隐性患者, 尽快清零. 2020年12月28日~2021年2月9日, 香港特别行政区政府共对污水检测呈阳性的26个小区发出强检令, 发现超过50例确诊个案, 切断了这些小区中的隐性传播链. 其中不少个案是在该区未发现任何确诊个案的情况下通过污水检测查找出来的, 这对控制香港的第4波疫情起到了重要的作用.

基于污水检测的防疫是跨部门综合性的策略行动, 需要快速的数据呈现和信息分享. 香港环境保护署和渠务署在香

港大学研究团队的配合下,迅速开发了相应的地理信息系统,为污水监测提供协助及技术支持,将污水采样点的人口和流行病学信息整合在一个在线平台,供大学研究团队、污水采样团队、污水监测团队以及公共卫生决策团队共同使用,实时分享信息,最终进行相关决策和采取相应的行动。目前香港已设置112个常规采样点,覆盖530万人口。

这个污水监测系统可以作为一个强大的雷达,能先于临床病例发现可能的传染源。例如,利用该污水监测系统,研究人员于2021年6月21日深夜,在香港大埔区一个常规采样点抽取的当日上午污水样本中,验出新冠病毒阳性信号,比相关临床个案的发现提前了一天多。

针对全球范围出现的高度传播的SARS-CoV-2变种,需要新的方法快速分辨不同的变种病毒。AS-RT-PCR是一种基于突变等位基因的检测技术,利用特异的检测新冠病毒刺突蛋白的不同突变位的引物-探针来确定变种类型。与基因排序相比,这种新方法通常能于非常短的时间内(几个小时),对变种病毒进行快速鉴定,以便采取跟进行动。最新的应用实例是,采用基于AS-RT-PCR的变种检测方法于大埔区常规采样点在2021年6月21日收集的一个污水样本中测出Delta变异株(即最早在印度发现的突变株)的阳性信号。污水检测早在相关个案有初步阳性结果的前一天,便给出了Delta变异株在社区污水出现的预警。这亦是香港第一次在社区污水中发现了Delta变异株。香港特别行政区政府根据污水阳性信号发出大范围的强制检疫公告,结合其他防疫措施,避免了一次由Delta变异株引起的新的社区暴发。

2 经验总结与讨论

在污水监测流程中,采样是至关重要的第一步。香港污水管网错综复杂,地面空间狭窄且道路交通繁忙,人口高度密集,污水厂人口当量大带来病毒信号的稀释,具体的采样方法与其他一些城市有很大的不同,选择合适的采样点和采

样模式是计划成功的关键。

根据前期小规模社区范围污水监测的经验探索,研究团队确定了以下几个方面的措施。(1)舍弃在污水处理厂采样的做法,改为在街道或社区的沙井采样,从而可以在一个合适的人口当量(大约3万人)的集水区安排常规采样点。(2)为缩短预警所需时间,不进行24 h采样而采用早高峰3 h采样,这样可以在当天晚上得到污水检测结果,便于第二天及时安排后续行动。(3)对每个常规采样点预先设置二级或三级的上游采样点,以便在出现阳性信号后,尽快缩小需要强制检测或封区行动的范围,减少对公众日常生活的影响。再者,为减少对交通和公众的影响,避免在地面上放置大型采样器,尽量采用放置在沙井内的紧凑型采样器。(4)根据前期病例分布区域和风险等级,将采样频率确定为每周两次(热点地区)或是每周一次。为应对传播速度较快的Delta变异株,目前的采样频率仍需进一步提高,理想的情况是每周两次,与欧洲联盟的最新建议相近^[6]。

污水样品的预处理和检测过程也是重要的环节。目前,没有哪种方法可以作为标准,也很难有一种各地都通行的所谓“标准方法”。虽然一些机构(如欧洲联盟和美国疾病控制与预防中心)有一些原则性的建议,但最终的适用性及方法的选择需要因地制宜。首先是选取哪种样品,是污水中悬浮的病毒还是颗粒物里的病毒?其次,如果是针对污水中悬浮的病毒,采用哪种方式将稀释的病毒进行预浓缩?再者,用什么方法来提取RNA?最后,以什么目标基因作为病毒存在的标志物进行检测?这些问题虽有一些相关研究,但目前并没有确定性的结论。

在这些方面,香港的实际经验是,首先用低速离心去除污水中的颗粒以避免复杂基质对后续提取和检测的影响,然后以超高速离心浓缩污水上清液中的病毒,再用裂解缓冲液提取RNA,最后对两个基因片段进行检测以确保信号的准确性(图1)。这只是目前根据香港的研究实践总结出的一些经验,

图1 (网络版彩色)污水中新冠病毒的基本检测流程

Figure 1 (Color online) The general procedure for SARS-CoV-2 sewage testing

是否在其他地区适用需要进一步的评估。

污水中的病毒RNA除了来自新增的患者,也可能来自病愈者。目前的污水核酸检测方法并不能区分这两者,因此在检测到阳性信号后需要核查该地区病愈者的记录,以便对污水的阳性信号进行解读和判断,以决定是立刻采取强制检测行动,还是继续采样观察趋势。单从公共卫生防疫的预防性原则考虑,不管有无病愈者都应该采取行动,以免错过新增尤其是隐性的患者,但从社会综合考虑出发,需要保持根据具体情况作出相应决策的灵活性。

3 展望

通过这次新冠疫情中各地对污水流行病学的大规模实践,人们已清楚地认识到污水监测系统能够在疾病控制中起

重要作用。下一步的研究重点是选择更合适的污水采样时间,优化样本前处理程序,提高采样和检测能力,开发病菌病毒变种检测的新方法,并整合临床和流行病学数据,进一步将污水监测系统发展成一个更强大的系统,以辅助抗疫。

可以预见,在这个基础之上,各城市都会逐步建立和完善污水监测系统,并把这个系统作为未来智慧城市的一部分,保护人们健康免受已知和新的病菌病毒侵害。为适应这种发展趋势,新城镇建设和老城区改造中应提前考虑这些情况,在污水管网的设计和建设充分考虑污水采样、在线检测以及利用5G网络进行数据传输和分享等各个方面。

污水不单单只是城市化带来的环境问题,也是人类健康和公共卫生安全的重要信息来源。污水可以告诉我们人群的健康状况,我们正在学习如何倾听。

推荐阅读文献

- 1 Medema G, Been F, Heijnen L, et al. Implementation of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus to support public health decisions: Opportunities and challenges. *Curr Opin Environ Sci Health*, 2020, 17: 49–71
- 2 Thompson J R, Nanchaiah Y V, Gu X, et al. Making waves: Wastewater surveillance of SARS-CoV-2 for population-based health management. *Water Res*, 2020, 184: 116181
- 3 Larsen D A, Wigginton K R. Tracking COVID-19 with wastewater. *Nat Biotechnol*, 2020, 38: 1151–1153
- 4 Wu F, Xiao A, Zhang J, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *Msystems*, 2020, 5: e00614-20
- 5 Xu X, Zheng X, Li S, et al. The first case study of wastewater-based epidemiology of COVID-19 in Hong Kong. *Sci Total Environ*, 2021, 790: 148000
- 6 European Commission. Recommendation on a Common Approach to Establish a Systematic Surveillance of SARS-CoV-2 and its Variants in Wastewaters in the EU. Brussels, 2021

Summary for “污水监测新型冠状病毒辅助抗疫”

Applications of SARS-CoV-2 sewage surveillance to fight against COVID-19

Tong Zhang^{1*} & Ho-Kwong Chui²

¹ Environmental Microbiome Engineering and Biotechnology Laboratory, Department of Civil Engineering, the University of Hong Kong, Hong Kong, China;

² Environmental Protection Department, the Government of the Hong Kong Special Administrative Region, Hong Kong, China

* Corresponding author, E-mail: zhangt@hku.hk

The municipal sewage collection and treatment system in a city is not only an important engineering infrastructure to protect human health, but also a source of information on the health status of the people and the development trend of infectious diseases (such as Corona Virus Disease 2019, COVID-19). After the outbreak of COVID-19, a number of researches and practices on the monitoring and analysis of SARS-CoV-2 virus in sewage have been carried out to assist the fight against COVID-19. Hong Kong's research and experience in using sewage monitoring to control the spreading of SARS-CoV-2 provided an important reference for the development of the methodology in wastewater-based epidemiology, the establishment of technological platforms, and the planning and design of the infrastructure of future cities.

The interdisciplinary research team of environmental microbiology, engineering and public health of the University of Hong Kong, with the strong supports and in collaboration with relevant departments of the Government of the Hong Kong Special Administrative Region (SAR), has first developed the laboratory analytical method, then conducted testing and explorations in local communities, and finally established a comprehensive sewage monitoring network for Hong Kong. The analytical method developed by the team consists of a two-step separation step and the detection of two gene segments of the SARS-CoV-2 virus for determining the presence of the SARS-CoV-2 in sewage.

The research and development results demonstrated that sewage surveillance could be applied in Hong Kong for the following purposes. (1) Providing early warning signals for COVID-19 outbreak: The research showed that the sewage surveillance results have correlated very well with the fourth wave of epidemic outbreaks in Hong Kong since mid-November of 2020. The detection of viruses in sewage could be used as supplementary information to complement clinical testing to provide early warning signals of community outbreak. (2) Tracking the trend of community outbreak: During the epidemic, the changes in the detection rate of viruses in sewage can be used to assess the trend of the epidemic in the community. (3) Complementing the monitoring of infection clusters in local communities/housing estates: In response to the development of the fourth wave of the epidemic in Hong Kong, the research team flexibly adjusted the monitoring plan, conducted targeted sampling and analysis at buildings/housing estates/street blocks with infection clusters, and provided complementary information for clinical tests.

Between 28 December 2020 and 9 February 2021, compulsory testing notices were issued in 26 buildings/street blocks of Hong Kong where sewage test results were positive, including compulsory testing in “restricted areas”. More than 50 confirmed COVID-19 cases were identified, cutting off hidden transmission chains in these communities.

The sewage monitoring system of SARS-CoV-2 has now been fully implemented in Hong Kong by EPD (Environmental Protection Department) and DSD (Drainage Services Department), covering over 100 regular sampling sites in Hong Kong, providing early warning signals of COVID-19 re-emergence for over five million people, and has also become an important basis for follow-up epidemic prevention work.

Using this system, the HKU team successfully identified the Delta variant in a sewage sample collected on June 21, 2021 from Tai Po, and alerted the first introduction of the Delta variant in the community sewage of Hong Kong before the relevant clinical case was reported. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region took quick action according to sewage test results and stopped the transmission.

Following the success in the development of sewage testing methods worldwide, the research and developments should focus on better use of in-manhole samplers, selecting the most suitable sewage sampling time windows, simplifying the sample pre-treatment procedure, increasing the sampling and testing capacity, developing new methods for variants, and integrating clinical/epidemiological data, to further develop the sewage surveillance system into a more powerful tool to facilitate decision-making in fighting SARS-CoV-2.

At present, it has been clearly realized that sewage monitoring can play an important role in controlling the spread of diseases. Many cities are gradually establishing and improving sewage monitoring systems and using this system as a part of future smart cities to protect public health from known and new pathogens. Sewage may tell the health of a city, and we are learning how to listen to it.

sewage, surveillance, epidemiology, SARS-CoV-2

doi: [10.1360/TB-2021-0757](https://doi.org/10.1360/TB-2021-0757)