

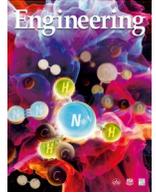


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/eng](http://www.elsevier.com/locate/eng)



Research  
Coronavirus Disease 2019—Article

## 污水监测追踪新型冠状病毒的时空动态变化

郑夏婉<sup>a</sup>, Kathy Leung<sup>b,c,d</sup>, 徐晓庆<sup>a</sup>, 邓好<sup>a</sup>, 张玉琳<sup>a</sup>, 陈熙<sup>a</sup>, Chung In Yau<sup>e</sup>, Kenny W.K. Hui<sup>g</sup>, Eddie Pak<sup>g</sup>,  
徐浩光<sup>h</sup>, 杨戎<sup>h</sup>, Hein Min Tun<sup>i</sup>, 梁卓伟<sup>b,c</sup>, Joseph Tsz Kei Wu<sup>b,c,d</sup>, Malik Peiris<sup>e,f</sup>, 潘烈文<sup>e,f</sup>, 张彤<sup>a,e,\*</sup>

<sup>a</sup> Environmental Microbiome Engineering and Biotechnology Lab, Center for Environmental Engineering Research, Department of Civil Engineering, The University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China

<sup>b</sup> WHO Collaborating Centre for Infectious Disease Epidemiology and Control, School of Public Health, Li Ka Shing Faculty of Medicine, The University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China

<sup>c</sup> Laboratory of Data Discovery for Health Ltd. (D24H), Hong Kong 999077, China

<sup>d</sup> The University of Hong Kong–Shenzhen Hospital, Hong Kong 999077, China

<sup>e</sup> School of Public Health, Li Ka Shing Faculty of Medicine, The University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China

<sup>f</sup> HKU–Pasteur Research Pole, The University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China

<sup>g</sup> Drainage Services Department, The Government of the Hong Kong Special Administrative Region, Hong Kong 999077, China

<sup>h</sup> Environmental Protection Department, The Government of the Hong Kong Special Administrative Region, Hong Kong 999077, China

<sup>i</sup> The Jockey Club School of Public Health and Primary Care, Faculty of Medicine, The University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 25 May 2023

Revised 2 November 2023

Accepted 2 January 2024

Available online 15 March 2024

#### 关键词

新型冠状病毒

污水监测

患病率

即时有效繁殖率

#### 摘要

污水监测(WWS)具有覆盖范围广、监测频率高、可用于大规模人群的预防性筛查等优点,能够快速且准确地追踪传染病的传播趋势,为现有的临床监测系统提供辅助信息。本研究开展了为期9个月的严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2,简称新冠病毒)污水监测工作,选取了覆盖全香港约80%人口的12个污水处理厂(WWTP)进行每日采样,进而追踪新冠病毒在社区人群中传播的时空动态变化。研究表明,污水中新冠病毒浓度与临床监测的每日报道病例数呈正相关,并在采样时间段内比临床监测提前三天观察到两次病毒流行的高峰期。此外,我们开发了两种不同的方法从污水监测数据中估算社区人群中的患病率和发病率。基于污水监测数据得出的估算结果与另外两个大范围全港临床监测项目[即快速抗原测试(RAT)监测和血清学监测]的估算结果相一致,但高于香港卫生防护中心(CHP)报道的病例数。与此同时,我们还通过污水监测数据估算了即时有效繁殖率( $R_t$ ),从而反映新冠病毒在整个城市和区域性的传播动态。研究结果显示,基于污水处理厂的大规模且密集的污水监测能够提供经济高效且及时的公共卫生信息,尤其是在临床监测不够充分且成本昂贵的情况下。除此之外,该方法还提供了更高时空分辨率的疫情动态数据,为制定有效的防控政策和有针对性的资源分配提供了参考依据。

© 2024 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## 1. 引言

在新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情快速发展阶段,及时且准确地研判疫情整体变化趋势对评估病毒传播

模式和实施有效的公共卫生干预措施至关重要。目前,临床监测主要是依靠个人核酸检测或者快速抗原自测盒检测来确诊个案,但这种监测手段用于大规模检测时,费时费力,且费用高昂。同时,其检测结果可能会受到多种因素

\* Corresponding author.

E-mail address: zhangt@hku.hk (T. Zhang).

2095-8099/© 2024 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

英文原文: *Engineering* 2024, 40(9): 70–77

引用本文: Xiawan Zheng, Kathy Leung, Xiaoqing Xu, Yu Deng, Yulin Zhang, Xi Chen, Chung In Yau, Kenny W.K. Hui, Eddie Pak, Ho-Kwong Chui, Ron Yang, Hein Min Tun, Gabriel Matthew Leung, Joseph Tsz Kei Wu, Malik Peiris, Leo Lit Man Poon, Tong Zhang. Wastewater Surveillance Provides Spatiotemporal SARS-CoV-2 Infection Dynamics. *Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.eng.2024.01.016>

的影响而存在偏差，如临床检测能力、个人检测意愿、数据报道政策等。污水监测（WWS）作为一种高效的新兴工具，在新冠疫情期间得到了大规模应用，目前，已经有70多个国家/地区开展严重急性呼吸综合征冠状病毒2（SARS-CoV-2，简称新冠病毒）污水监测工作，并开发了166个污水监测在线数据共享网站[1-2]。在香港，自2020年初疫情暴发以来，污水监测开始得到运用，并已被用于指导公共卫生干预措施[3-6]。然而，作为一种新兴和不断发展的监测工具，目前尚未制定出标准化方法来将污水监测数据转化为具有现实指导意义的公共卫生信息。自2020年至2022年，香港实施了高频率的病例检测、病例追踪和接触者追踪等政策，并执行严格的公共卫生和社会防控措施（PHSMs），包括戴口罩和保持社交距离等。同时，香港作为一个人口密集且拥有完善废水系统的城市，为我们探索如何运用污水数据反映传染性疾病的传播动力学提供了重要机遇。

现有的研究表明，污水中的SARS-CoV-2浓度与临床病例数据存在显著相关性[7-9]。然而，基于污水监测数据推断COVID-19的感染人数仍然具有很大的挑战性，并且缺乏与同时期其他临床监测结果进行交叉验证的研究。反推法是基于覆盖区域内的污水总病毒载量除以个体病毒载量来估计感染人数[4,10]，但估算结果会受到各种参数的影响，如个体病毒载量的变化、污水的水力停留时间等[11]。为了解决这些局限性，另一种方式是运用数据处理与转换模型来估计COVID-19感染人数，如线性回归模型[12-13]、神经网络模型[11]等。

为了便于直接使用污水数据为公共卫生决策提供关键信息，当前领域的研究热点为如何基于污水监测数据估算出公共卫生评估指标。例如，即时有效繁殖率（ $R_t$ ）首次被报道，可以基于瑞士两家污水处理厂的污水中病毒浓度（ $R_{ww}$ ）数据进行估算，其结果与从临床病例数据估算出的即时有效繁殖率（ $R_{cc}$ ）相似[14]。在本文中，我们旨在评估污水监测如何从整个城市 and 不同区域这两个维度提供更高时空分辨率的 $R_{ww}$ ，并将这些结果与基于临床报道病例估算的 $R_{cc}$ 进行比较。

长期且高频率的污水监测数据集对于验证污水监测对辅助公共卫生措施的适用性非常重要，然而，到目前为止，收集到的长期时空分布污水监测数据集仍相对较少。从2022年2月起，香港临床检测能力开始出现超负荷运转[15]，本研究建立了基于全香港12个污水处理厂的每日污水监测系统，用来反映香港第五波疫情发展的动态变化。此外，我们还基于污水监测数据估计社区人群的患病率、发病率和其他流行病学参数，这些估算结果可为公共卫生

决策提供参考数据。

本研究结果发现，污水监测在准确且及时地监控疫情发展趋势方面起到重要的作用。该跨学科研究通过结合多种不同的流行病学监测工具，促进更深入地理解社区人群中COVID-19传播动力学。我们也展示了如何利用多维数据集掌握更准确、更全面的疫情变化，从而能够制定更有效的公共卫生干预措施。本研究建立的新方法和收集到的数据集，能够为其他城市将污水监测数据转化为有指导意义的公共卫生信息提供方法框架和对照数据，如污水病毒拷贝数与临床病例的比率（WC比率）、估计的患病率/发病率和即时有效繁殖率等。本文为如何运用污水监测作为一种信息丰富的公共卫生监测工具提供了新方法和新见解。此外，本研究有助于将污水监测整合到当地乃至全球公共卫生监测系统中，以更好地追踪疫情变化趋势。这些发现对于未来防控其他传染病疫情的暴发具有重要意义。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 样本收集

从2022年2月14日至2022年11月1日，研究团队从12个污水处理厂每天收集未经处理的进水样本，持续时间约为9个月（261天），监测的污水样本覆盖了全香港约80%的人口（附录A中图S1）。采集的污水样本为24 h混合样本，由自动采样器间隔15 min或30 min采集一次污水样本并进行混合。更多详细信息见附录A中表S1。

### 2.2. 样本预处理与分析

在样本预处理前，先将污水样本放在60 °C水浴锅中热灭活30 min。随后，使用聚乙二醇（PEG）沉淀法对污水样本进行富集浓缩，并使用QIAamp Viral RNA Mini Kit（Qiagen）在QIAcube Connect自动核酸提取仪上提取总量为50 μL的RNA，具体提取方法见之前报道的研究工作[16]。采用一步法反转录定量聚合酶链反应（RT-qPCR）检测污水中的新冠病毒浓度，具体检测方法见之前报道的研究工作[6]。从2022年2月14日至2022年4月26日采集的污水样本使用美国疾病控制与预防中心推荐的N1检测方法，而从2022年4月27日至2022年11月1日采集的污水样本则使用本研究团队新设计的靶定N基因的HKU-05检测方法，从而能够对新变种更灵敏地检出。污水中新冠病毒浓度通过在同块96孔板中生成的标准曲线进行定量，该标准曲线覆盖每次反应10~10<sup>7</sup>个拷贝的动态范围。在定量步骤中，我们考虑了污水处理量（40 mL）、每次核酸提取中的RNA洗脱体积（50 μL）以及PCR反应中的模

板体积 (4  $\mu\text{L}$ ), 并假设整个分析过程中的病毒颗粒回收效率为 100%, 且无 PCR 抑制效应。更多详细信息见附录 A 中表 S2。

### 2.3. 质量控制过程

两种检测方法的最低检测限 (LoD) 是通过检测浓度范围为 2.5~10.0 个拷贝  $\cdot \mu\text{L}^{-1}$  的 SARS-CoV-2 RNA 确定的, 每个浓度重复检测十次。N1 和 HKU-05 方法用 qPCR 检测的 LoD 值分别为 10.00 个拷贝  $\cdot \mu\text{L}^{-1}$  和 2.65 个拷贝  $\cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。相应地, 污水样本的 LoD 值分别为 3125 个拷贝  $\cdot \text{L}^{-1}$  (N1 方法) 和 828 个拷贝  $\cdot \text{L}^{-1}$  (HKU-05 方法)。在收集的全部 2887 个污水样本中, 808 个样本 (28.0%) 使用 N1 检测方法, 2079 个样本 (72.0%) 使用 HKU-05 检测方法。N1 方法和 HKU-05 方法的检出率分别为 28.0% (808/2887) 和 71.3% (2059/2887)。

为了检验整个检测方法的可重复性, 我们对采集于香港西北九龙基本污水处理厂 (NWK) 的 40 个污水样本进行了重复检测。如附录 A 中图 S2 所示, 两份重复样本中的新冠病毒浓度的斜率为 0.90 ( $R^2 = 0.68$ ), 配对  $T$  检验未显示出显著差异 ( $p > 0.05$ )。

### 2.4. 流行病学数据

每天报道的 COVID-19 病例数 (包括本地病例和输入病例) 来自中国香港卫生防护中心 (CHP) 的官方网站<sup>†</sup>。从 2022 年 2 月 26 日起, 政府开始基于 PCR 检测和快速抗原检测 (RAT) 检测两种检测结果作为阳性病例的汇报结果。因此, 从这一时间点起, 每天报道的病例数被定义为 PCR 和 RAT 阳性检出结果的总和。PCR 检测结果来自从定点实验室收集到的呼吸道标本的检测结果, 而 RAT 检测结果则是来源于个人自行 RAT 检测后将结果报道到指定网站。附录 A 中表 S3 中提供了不同数据来源的更多信息。

### 2.5. 全香港污水中新冠病毒浓度的计算

使用公式 (1) 计算全香港每日的总病毒载量:

$$L = \left( \sum_{i=1}^n C_i \times Q_i \right) \div \frac{\sum_{i=1}^n Q_i}{Q} \quad (1)$$

式中,  $i$  为每个采样污水处理厂的编号;  $L$  为全香港每日的总病毒载量 (拷贝  $\cdot \text{d}^{-1}$ );  $C_i$  为每个污水处理厂的污水中每日新冠病毒浓度 (拷贝  $\cdot \text{L}^{-1}$ );  $Q_i$  为每个采样污水处理厂的每日污水流量 ( $10^3 \text{L} \cdot \text{d}^{-1}$ );  $n$  为采样的污水处理厂数量。

使用公式 (2) 计算全香港每日污水中的新冠病毒浓度:

$$C = \frac{L}{Q} \quad (2)$$

式中,  $C$  为全香港每日污水中的新冠病毒浓度 (拷贝  $\cdot \text{L}^{-1}$ );  $Q$  为全香港的每日污水总流量, 取值为  $2.8 \times 10^6 \text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ 。

### 2.6. 计算 WC 比率

现有研究发现, WC 比率是反映临床检测能力和政策变化的有效指标 [17–18], 其计算公式如下:

$$\text{WC} = \frac{C}{N} \quad (3)$$

式中,  $N$  为 CHP 每日报道的确诊病例总数。

### 2.7. 基于污水监测数据估算患病率/发病率

#### 2.7.1. 方法 1: 基于人均病毒载量

污水中的总病毒载量或者病毒浓度反映了采样污水覆盖区域内所有感染者的患病率, 包括当天的新增感染人数 (定义为发病率) 和尚未康复的现有感染者。根据公式 (4) 和 (5) 可估算患病率和发病率:

$$\text{PR}_{\text{load}} = \frac{L}{S \times W \times P} / \theta_1 \quad (4)$$

$$\text{IR}_{\text{load}} = \frac{\text{PR}_{\text{load}}}{D_1} \quad (5)$$

式中,  $\text{PR}_{\text{load}}$  为基于污水中的总病毒载量估算的每日患病率;  $S$  是每个感染者在粪便样本中的人均病毒载量, 假设为  $7.30 \log_{10}$  拷贝  $\cdot \text{g}^{-1}$  [19], Zheng 等 [20] 报道的粪便样品中人均病毒载量为  $2\sim 8 \log_{10}$  拷贝  $\cdot \text{g}^{-1}$ ;  $W$  为粪便样本的湿重, 假设为  $164 \text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ , 取自  $128 \text{g} \cdot \text{d}^{-1}$  [21–22] 和  $200 \text{g} \cdot \text{d}^{-1}$  [10] 这两个数值的平均值;  $P$  为全香港的人口总数, 约为 7 413 100 人;  $\theta_1$  为污水监测的方法灵敏度, 假设为 81.8%, 来源于粪便样本中的检出率 [23], 粪便检出率范围为 15.3%~100% [24];  $\text{IR}_{\text{load}}$  为基于污水检测数据的总病毒载量估算的每日发病率;  $D_1$  为每个感染者向污水中释放病毒的持续时间, 假设为 7 d [25]。

#### 2.7.2. 方法 2: 基于低感染率阶段的报道病例

此方法假设在低感染率阶段, 由于临床检测能力充足, 临床监测能够检测出所有感染病例, 从而病例检出比例 (即当天报道病例数与实际新增感染病例数的比例) 接近 100%。选取 2022 年 4 月 18 日至 2022 年 6 月 2 日这一时间段作为训练数据集, 因为该期间每天报道的病例数少于 1000 例。这一时间段的训练数据集包括 498 个基于 12 个污水处理厂的污水样本中新冠浓度结果, 和 46 天基于 CHP 报道的每日患病率。运用线性回归模型对训练数据

<sup>†</sup> <https://www.chp.gov.hk/en/index.html>

集进行数据拟合，将拟合结果应用于估算全香港其他时间段的患病率以及12个污水处理厂所覆盖区域的区域性患病率。该方法的灵敏度假设与方法1相同，均为81.8%。每日发病率通过每日患病率除以人均排毒持续时间 $D_1$ ，类似于方法1。

## 2.8. 基于临床监测数据估算患病率/发病率

### 2.8.1. 方法3: 基于CHP的报道病例数

此方法假设每日患病率是当天的每日发病率与前6天的每日发病率之和（共7天）。每日发病率通过将CHP报道的每日确诊病例数除以香港的人口总数进行计算。

### 2.8.2. 方法4: 基于RAT监测

从2022年3月3日起，香港进行了一项全港范围的快速抗原监测筛查项目，即每日向18个地区的10 000名参与者发放RAT进行自我检测，通过计算RAT的阳性比例来获取全香港的每日点患病率[26]。使用公式(6)可以将每日点患病率转化为每日发病率[25]：

$$IR_{RAT} = \frac{PR_{RAT}}{D_2} / \theta_2 \quad (6)$$

式中， $PR_{RAT}$ 为通过RAT监测获取的每日点患病率，数据来自在线网站<sup>†</sup>； $IR_{RAT}$ 为基于RAT监测估算的每日发病率； $D_2$ 为每个感染者出现RAT阳性结果的持续时间，假设为7 d [25]； $\theta_2$ 为RAT检测的方法灵敏度，假设为75% [25]。

### 2.8.3. 方法5: 基于血清学监测

从2022年1月1日至2022年7月31日，香港进行了一项覆盖范围广泛的血清学监测项目，参与者为5310人，估算累计的感染率(IAR)为45% (置信区间为41%~48%) [27]。IAR定义为与疾病发生接触的人群比例。我们假设IAR相当于社区人群中的实际发病率，并且血清学监测的每日IAR与同日CHP报道的每日发病率之间存在固定的换算因子。从2022年1月1日至2022年7月31日，累计的IAR为45.0%，而CHP报道的累积发病率为18.1%，因此，转换因子为2.5。相应地，从2022年3月3日至2022年11月1日，报道病例的累积发病率为20.4%，根据上述血清学监测的转换因子，估算得到累计IAR为50.9%。

## 2.9. 计算 $R_t$

### 2.9.1. $R_{cc}$

基于临床监测数据估算的 $R_t$ 使用CHP报道的确诊病

例数作为输入数据集，并通过R语言包EpiNow进行计算。COVID-19传染的代际时间均值为4.6 d，标准差(SD)为3.1 d [28]。潜伏期采用 $\gamma$ 分布进行模拟，均值±标准差为(3.5 ± 2.6) d [29]。感染到出现症状之间的延迟时间基于 $\gamma$ 分布进行估算，形状参数为1.83，速率参数为0.43 [30]。

### 2.9.2. $R_{ww}$

基于污水监测数据估算的 $R_t$ 使用方法1或方法2估算的发病率作为输入数据集，并使用EpiNow进行计算。采用的代际时间和潜伏期与计算 $R_{cc}$ 时相同，但由于污水监测被认为是一种接近实时的监测工具，能够即时获取采样覆盖区域内的感染患病率，因此感染与报道结果之间的延迟时间假设为0。

## 2.10. 统计分析

污水监测与临床数据的整体趋势采用7天移动平均法进行标准化处理。使用非参数的Kendall Tau-b值研究污水中新冠病毒浓度与CHP报道病例数之间的相关性。平均绝对误差值(MAE)用于对比污水监测和临床监测分别估算得到的患病率，采用R语言包“Metrics”进行计算。所有统计分析均使用R版本4.0.3完成。

## 3. 结果

### 3.1. 追踪疫情趋势

在污水监测的第五波疫情期间，大多数污水处理厂的进水样本中新冠病毒浓度呈现出相似的变化规律，即2022年2月初出现了一个急剧的高峰，2022年9月初则出现了一个较小的高峰(图1)。从2022年2月14日至2022年11月1日，7天移动平均污水中病毒浓度与7天移动平均的CHP报道病例数之间表现出显著相关性[Tau-b = 0.74,  $p < 2.2 \times 10^{-16}$ , 图2(a)]。污水数据表明，2022年3月1日和2022年9月6日出现了两个疫情高峰，且两者都比CHP报道的病例高峰提前3天。这个3天的时间差是基于污水监测的进水样本采集日期与临床监测的确诊个案报道日期之间的差异得出。这些结果表明污水监测能够有效地作为监测疫情趋势的早期预警系统。

从2022年2月14日起，污水中的新冠病毒浓度急剧上升，而CHP报道的确诊病例数仅略有增加，没能客观地反映出当时的快速增长的疫情暴发状况。这可能是由于当时基于核酸检测的临床检测能力已经达到了上限，直到2022年2月26日将RAT检测结果纳入报道体系才得

<sup>†</sup> <https://covid19.sph.hku.hk/>

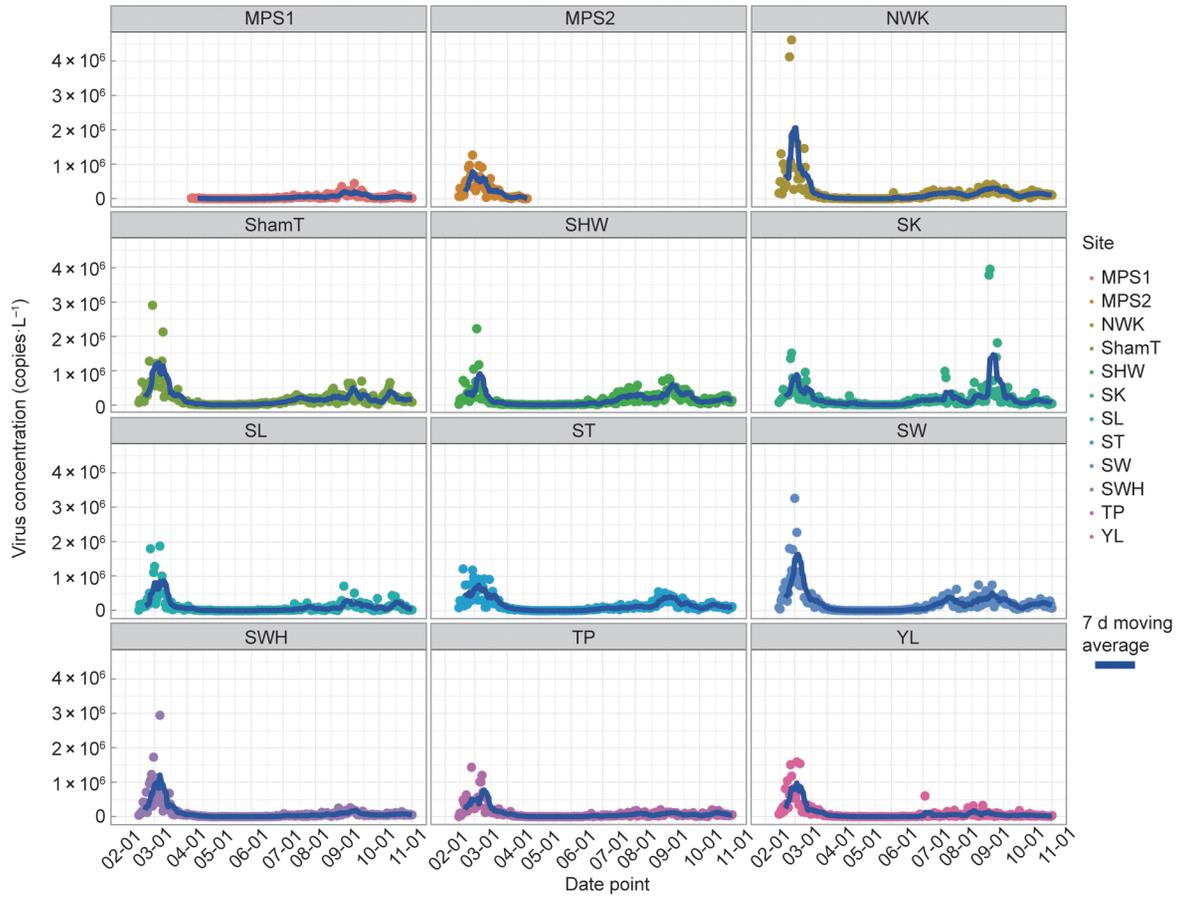


图 1. 各个污水处理厂的进水样本中 SARS-CoV-2 浓度及七天平均浓度趋势。站点名称是每个采样污水处理厂的缩写。MPS1 和 MPS2: 昂船洲; NWK: 九龙西北部; ShamT: 深井; SHW: 小蚝湾; SK: 西贡; SL: 赤柱; ST: 沙田; SW: 新围; SWH: 石湖墟; TP: 大埔 (第四阶段); YL: 元朗。

到缓解。在此期间（2月14日至2月25日），WC比率偏高，表明报道的确诊病例数出现低估现象[图2（b）]。随后，从2022年2月26日至2022年6月2日，WC比率保持相对稳定（ $10.70 \pm 4.60$ ）。从2022年6月3日至2022年10月16日，出现WC比率翻了一倍（ $21.97 \pm 8.70$ ），这可能是由于随着公众对 COVID-19 的焦虑情绪减弱，进而个人自我检测和报道意愿下降所造成的。此外，WC比率的增加还可能是由于存在其他 Omicron 亚变种（如 BA.2.12.2 和 BA.5）的新传播，这也导致了污水中总病毒载量的上升。

### 3.2. 估算患病率/发病率

本研究从污水数据集中建立起两种不同方法（方法1和2）估算患病率，得到的估算结果与社区 RAT 监测项目（方法4）的估算结果相似，而这三种方法的估算结果均高于 CHP 报道的确诊病例数（方法3），并且更早地监测到疫情的高峰期（图3）。此外，MAE 分析进一步表明，由于患病率比较的 MAE 值较低，相比于 CHP 报道的确诊病例数，两种污水估算结果与 RAT 监测估算结果更为接

近（附录 A 中表 S4）。不同监测工具之间的交叉验证结果表明，与 CHP 报道的病例相比，污水监测和 RAT 监测提供的患病率估算结果更为有效和准确。在实际应用的角度，污水监测通过对 12 个污水处理厂样本进行监测，可以了解整体疫情变化，而 RAT 监测则需要每天使用 10 000 个 RAT 进行检测。

从 2022 年 3 月 3 日至 2022 年 11 月 1 日，基于人均排毒量和基于低感染率阶段的报道病例这两种方法从污水中估算的累计 IAR 分别为 48.8% 和 44.8%（置信区间：29.6%~60.0%）。污水估算的累计 IAR 与 RAT 监测估算值（46.8%）和血清学监测估算值（50.9%）基本一致（详细估算过程见第 2.8 节）。这些不同的监测工具得到相似的估算结果，表明了污水处理厂进行污水监测能够获取及时且具有高成本效益的公共卫生信息。

此外，运用污水数据估算了每个污水处理厂所覆盖的区域内的每日患病率，达到提供更高空间分辨率的疫情发展趋势（附录 A 中图 S2）。大多数污水处理厂的区域患病率相似，疫情趋势基本一致，除了西北九龙基本污水处理

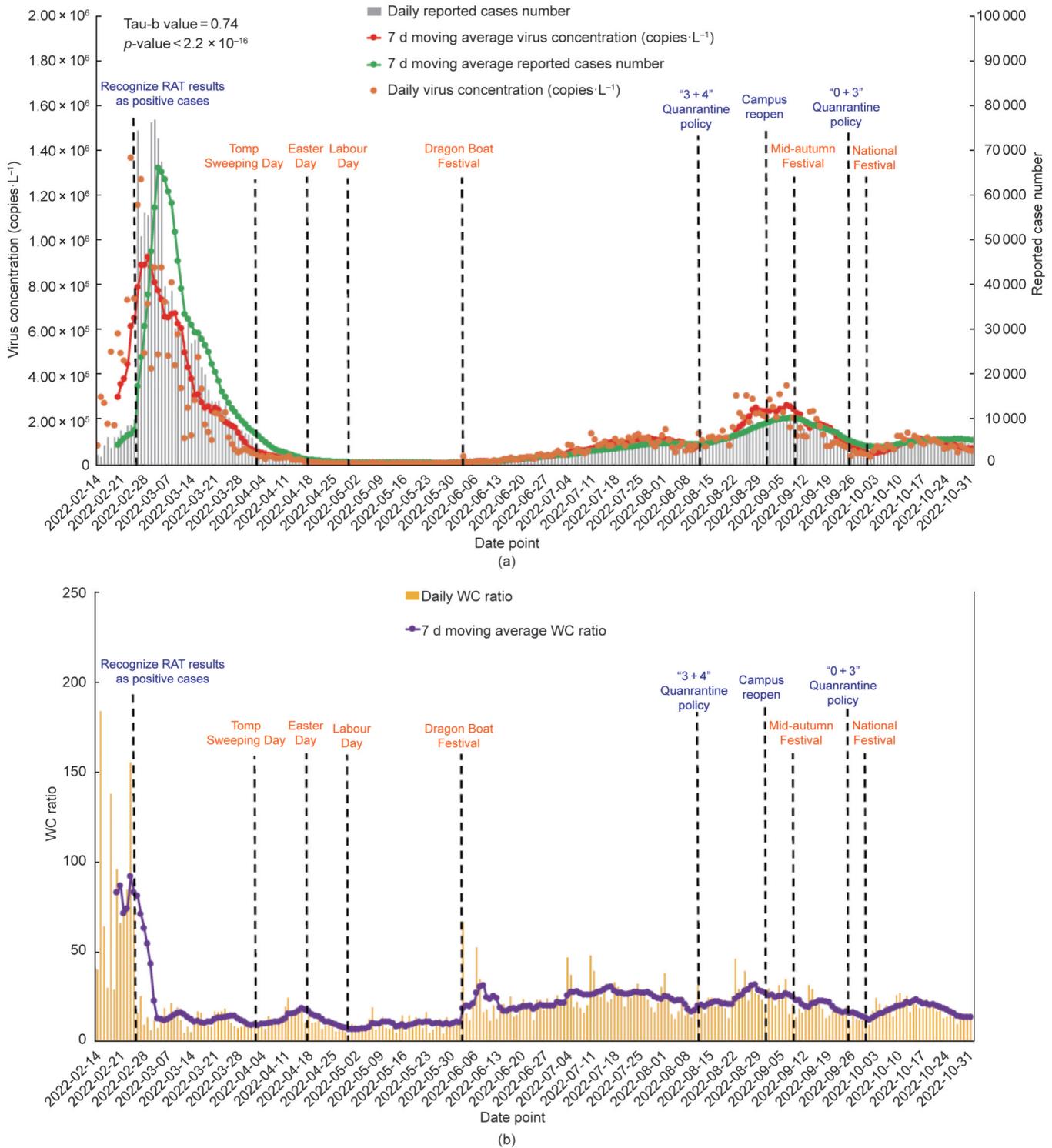


图2. 对比污水监测的SARS-CoV-2病毒浓度和临床监测的报道病例数。(a) 每日或7天移动平均值；(b) WC比率，其计算方法是将废水中的病毒浓度除以报道的病例数。

厂 (NWK) 在2月下旬和西贡污水处理厂在9月初的患病率较高 (约 50%)。这些结果表明，污水监测可以提供地理上的疫情差异以及各区域污水处理厂的近实时感染动态，可帮助决策者获取及时且准确的信息，进行实施有针对性的资源分配。

### 3.3. 估算 $R_t$

本研究通过污水监测数据 ( $R_{ww}$ ) 和临床监测的报道病例数 ( $R_{cc}$ ) 两套数据集计算即时有效繁殖率参数  $R_t$  (图4)。研究发现， $R_{ww}$  和  $R_{cc}$  在5月中旬上升至1以上，标志着第二次疫情高峰的开始。 $R_{ww}$  从6月至8月的变化趋

势与 $R_{cc}$ 相似，但 $R_{ww}$ 比 $R_{cc}$ 提前了两周并表现出更陡峭的增长趋势。从8月初开始， $R_{ww}$ 和 $R_{cc}$ 均显示出类似的增长至超过了1，并在两周后达到峰值。同样，也估算了各个污水处理厂的区域性 $R_{ww}$ 值，反映出区域性的COVID-19传播动态变化（附录A中图S4）。结果表明， $R_{ww}$ 和 $R_{cc}$ 之间存在一致性，均能有效地反映传播动态，且 $R_{ww}$ 能够比 $R_{cc}$ 更早地反映趋势变化。

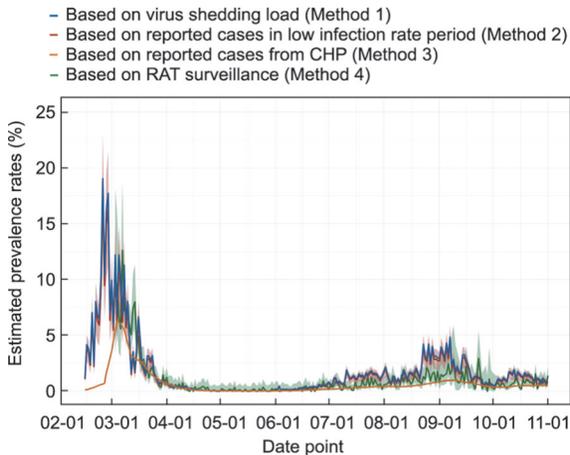


图3. 对比基于污水监测（方法1和2）和临床监测（方法3和4）估算的患病率。

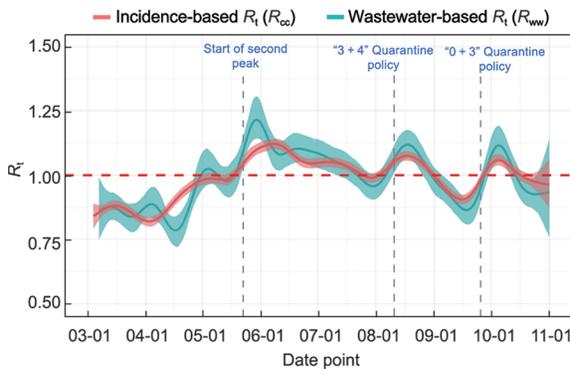


图4. 对比基于污水监测（ $R_{ww}$ ）和临床监测（ $R_{cc}$ ）估算的即时有效繁殖率。

## 4. 讨论

污水监测被认为是一种准确、及时、成本效益高且信息丰富的公共卫生监测新工具。为了阐明污水监测在公共卫生防控的适用性，亟需进行一些能够得到实际验证的案例研究。为了实现这一目标，本研究解决了大规模长期污水监测中存在的技术问题。首先，本研究证明了采用污水处理厂的24 h混合样本监测全香港疫情动态的可行性。与在上游污水泵站的采样方式相比，在污水处理厂进行采样监测新冠整体疫情动态是一个成本效益更高的方法，因为

其覆盖区域更广，所需采样的污水样本数量也更少。此外，更长的监测时间（24 h）也比上游污水泵站采用3 h混合样本更具代表性。在后疫情时期，随着公众对疫情防控的“疲劳感”增加，安排基于大多数城市现有的污水处理厂基础设施进行污水监测将是一种简单而可行的方法，既能够监测疫情发展趋势，又减少对个人进行强制检测的干扰。其次，我们考虑了评估污水监测长期趋势时操作方法的可重复性和质量控制过程。在本研究中，我们对西北九龙基本污水处理厂污水样本在每个批次实验中进行重复处理，结果显示重复样本间表现出良好的一致性（附录A中图S3）。目前，大多数实验室已经开发了自己的检测方法和质量控制流程，如检测加标外源性病毒的回收效率[31–32]，或者检测内部病毒的相对浓度（如PMMoV和CrAssPhage）[14,33]。为了污水监测的大规模应用与模型建立，未来研究可以评估不同的质量控制方法的效果，从而获得标准化的方法流程。

此外，污水监测被认为是评估COVID-19暴发的早期预警指标[3,34]。本研究表明，污水监测可以提供对疫情动态变化的早期预警信息，发出 $R_t$ 快速上升的信号，并且提前3天提示疫情高峰到来。在医疗系统和检测能力负荷过重时，污水监测这些优势对于实施公共卫生干预措施非常有用。污水监测数据不受病例检测能力和病例报道政策等多种因素影响，是能够为公共卫生决策（如分发医疗物资、分配医院床位以及重新安排检测站点）提供更及时、更可靠数据的一个关键工具。然而，污水监测在提供早期预警方面的有效性可能会受到实际操作安排的影响，如污水样本的收集方式、样本运输时间、病毒预处理方法以及qPCR检测安排等。获取污水监测结果所需时间从几小时到更长时间不等，具体取决于可用的资源（如仪器、人力、成本投入等）。

在香港，我们发现污水中新冠病毒浓度整体趋势与第四波[4]和第五波（本研究）新冠疫情的临床监测病例数趋势相吻合。污水监测的趋势还进一步反映了公共卫生和社会措施的变化（如放宽入境政策和调整社交距离措施）的影响[35–36]。随着新变种（如8月中旬的BA.5）的出现，以及由于疫苗接种或群体免疫增加等因素，这可能导致出现更多的无症状和轻症感染的感染者。传统的临床监测方法会遗漏无症状或轻症感染者，但这些感染者的传播性均反映在污水监测的整体趋势中。此外，公众对疫情防控的“疲劳感”也可能影响个人求医与检测的意愿，但这些个人行为并不会影响污水监测获取的信号。因此，污水监测可以作为了解整体疫情趋势的客观监测指标，类似于天气预报。

在本研究中，我们尝试建立两种不同方法从污水监测数据中估算患病率和发病率，估算结果与社区 RAT 监测和血清学监测的估算结果相似。然而，从污水监测数据中估算感染病例数仍存在一定的局限性。首先，污水中的总病毒载量无法区分新感染、再感染和仍具有排毒能力的康复患者。感染、再感染和仍具有排毒能力的康复患者均被包含在污水监测数据估算的患病率和发病率中，这可能会导致估算的患病率和发病率中存在个体的重复计算。在 Omicron 流行期间，研究发现无症状感染、轻度感染和再感染的感染者比 Alpha 和 Delta 流行期间更为普遍[37]，因此在 Omicron 流行期间，污水监测估算的累计 IAR 可能会与病例报道数据出现结果不一致的现象。此外，仍具有排毒能力的康复患者也会影响污水监测数据估算的患病率、发病率和累计 IAR。其次，从污水监测数据估算感染病例数是基于“每个感染者每天的人均病毒载量保持不变”的基本假设，且假设每个感染者释放病毒的持续周期相同。然而，实际情况中，不同 Omicron 毒株个体的病毒载量和释放病毒持续周期可能有所不同[38]。再次，其他因素也可能导致检测到的污水信号存在不确定性，如流经下水道系统时的病毒衰减、污水样本采样方式的选择（如流量加权或时间加权）、病毒在预处理前的灭活效果、病毒富集浓缩过程的回收效率、RNA 提取效率、RT-qPCR 检测的抑制作用、不同人群粪便中的病毒载量等。基于低感染率阶段的报道病例方法也可能会低估感染病例数，因为 CHP 数据的病例检出比例并非能达到 100%（因为报道病例数不包括无症状或非常轻微的感染者）。随后，基于污水监测建立实时的患病率和发病率估算过程，仍需要依赖于能够反映真实感染人数的临床数据（如血清学监测、点患病率调查或人均病毒载量等数据），这些数据随着新变种的出现和疫苗接种计划的推广需要进行不断更新。最后，本研究虽然通过每个污水处理厂估算了区域性的患病率和发病率，能够反映出地理差异，但由于缺乏足够的区域流行病学信息进行验证，因此这些差异的影响因素仍存在不确定性。

## 5. 结论

总之，我们的数据表明，在污水处理厂进行污水监测是一种有效、近实时、准确且成本效益高的监测策略，可提供整体疫情传播动态数据，并具有较高的时空分辨率，这些数据可为制定有效的公共卫生行动提供参考依据。相较于被动的临床监测方法，污水监测具有多个优势，如它不受临床检测能力或感染者个人求医行为的影响。此外，

污水监测捕捉到的信号包括来自轻症和无症状的感染者，这些感染者存在一定的病毒传播能力，但通常会被传统临床监测方法所遗漏。本研究中收集的数据集和实践经验将未来污水监测的大规模应用提供指导意见，并可用于监测和防控新冠疫情以及其他传染性疾病（如流感、脊髓灰质炎、猴痘病毒和新出现的未知疾病）。

## 致谢

本研究由香港特别行政区政府医务卫生局提供的医疗卫生研究基金(COVID1903015)资助。这项研究得到了由香港特别行政区政府创新科技署管理的 AIR@InnoHK (KL、GML 和 JTW)和 Health@InnoHK (MP 和 LLMP)的支持。我们感谢香港特别行政区政府环境保护署和渠务署在污水样本收集和运输方面的帮助。郑夏婉、徐晓庆和张玉琳感谢香港大学提供的博士后奖学金。陈熙感谢香港大学提供的研究生奖学金。我们还要感谢 Vicky Fung、Hiuchung Lam 和王思珏的技术支持和样本处理上的协助。

## Compliance with ethics guidelines

Xiawan Zheng, Kathy Leung, Xiaoqing Xu, Yu Deng, Yulin Zhang, Xi Chen, Chung In Yau, Kenny WK Hui, Eddie Pak, Ho-Kwong Chui, Ron Yang, Hein Min Tun, Gabriel Matthew Leung, Joseph Tsz Kei Wu, Malik Peiris, Leo Lit Man Poon, and Tong Zhang declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.eng.2024.01.016>.

## References

- [1] Naughton CC, Roman FA, Alvarado AGF, Tariqi AQ, Deeming MA, Bibby K, et al. Show us the data: global COVID-19 wastewater monitoring efforts, equity, and gaps. *FEMS microbes* 2023;4:xtad003.
- [2] Keshaviah A, Diamond MB, Wade MJ, Scarpino SV, Ahmed W, Amman F, et al. Wastewater monitoring can anchor global disease surveillance systems. *Lancet Glob Health* 2023;11(6):e976–81.
- [3] Xu X, Zheng X, Li S, Lam NS, Wang Y, Chu DKW, et al. The first case study of wastewater-based epidemiology of COVID-19 in Hong Kong. *Sci Total Environ* 2021;790:148000.
- [4] Zheng X, Li S, Deng Y, Xu X, Ding J, Lau FTK, et al. Quantification of SARS-CoV-2 RNA in wastewater treatment plants mirrors the pandemic trend in Hong Kong. *Sci Total Environ* 2022;844:157121.

- [5] Deng Y, Zheng X, Xu X, Chui HK, Lai WK, Li S, et al. Use of sewage surveillance for COVID-19: large-scale evidence-based program in Hong Kong. *Environ Health Perspect* 2022;130(5):057008.
- [6] Deng Y, Xu X, Zheng X, Ding J, Li S, Chui HK, et al. Use of sewage surveillance for COVID-19 to guide public health response: a case study in Hong Kong. *Sci Total Environ* 2022;821:153250.
- [7] Hillary LS, Farkas K, Maher KH, Lucaci A, Thorpe J, Distaso MA, et al. Monitoring SARS-CoV-2 in municipal wastewater to evaluate the success of lockdown measures for controlling COVID-19 in the UK. *Water Res* 2021;200:117214.
- [8] Wu F, Xiao A, Zhang J, Moniz K, Endo N, Armas F, et al. Wastewater surveillance of SARS-CoV-2 across 40 U.S. states from February to June 2020. *Water Res* 2021;202:117400.
- [9] Graham KE, Loeb SK, Wolfe MK, Catoe D, Sinnott-Armstrong N, Kim S, et al. SARS-CoV-2 RNA in wastewater settled solids is associated with COVID-19 cases in a large urban sewershed. *Environ Sci Technol* 2021;55(1):488–98.
- [10] Wu F, Zhang J, Xiao A, Gu X, Lee WL, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems* 2020;5(4):e00614–20.
- [11] Jiang G, Wu J, Weidhaas J, Li X, Chen Y, Mueller J, et al. Artificial neural network-based estimation of COVID-19 case numbers and effective reproduction rate using wastewater-based epidemiology. *Water Res* 2022;218:118451.
- [12] Schoen ME, Wolfe MK, Li L, Duong D, White BJ, Hughes B, et al. SARS-CoV-2 RNA wastewater settled solids surveillance frequency and impact on predicted COVID-19 incidence using a distributed lag model. *ACS EST Water* 2022;2(11):2167–74.
- [13] Zulli A, Pan A, Bart SM, Crawford FW, Kaplan EH, Cartter M, et al. Predicting daily COVID-19 case rates from SARS-CoV-2 RNA concentrations across a diversity of wastewater catchments. *FEMS Microbes* 2021;2:xtab022.
- [14] Huisman JS, Scire J, Caduff L, Fernandez-Cassi X, Ganesanandamoorthy P, Kull A, et al. Wastewater-based estimation of the effective reproductive number of SARS-CoV-2. *Environ Health Perspect* 2022;130(5):057011.
- [15] Chow WK, Chow CL, Cheng CH. Estimation of the total number of infected cases in the 5th wave of COVID-19 in Hong Kong. 2022. medRxiv:22278708.
- [16] Zheng X, Wang M, Deng Y, Xu X, Lin D, Zhang Y, et al. A rapid, high-throughput, and sensitive PEG-precipitation method for SARS-CoV-2 wastewater surveillance. *Water Res* 2023;230:119560.
- [17] Xiao A, Wu F, Bushman M, Zhang J, Imakaev M, Chai PR, et al. Metrics to relate COVID-19 wastewater data to clinical testing dynamics. *Water Res* 2022;212:118070.
- [18] D'Aoust PM, Tian X, Towhid ST, Xiao A, Mercier E, Hegazy N, et al. Wastewater to clinical case (WC) ratio of COVID-19 identifies insufficient clinical testing, onset of new variants of concern and population immunity in urban communities. *Sci Total Environ* 2022;853:158547.
- [19] Schmitz BW, Innes GK, Prasek SM, Betancourt WQ, Stark ER, Foster AR, et al. Enumerating asymptomatic COVID-19 cases and estimating SARS-CoV-2 fecal shedding rates via wastewater-based epidemiology. *Sci Total Environ* 2021;801:149794.
- [20] Zheng S, Fan J, Yu F, Feng B, Lou B, Zou Q, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang Province, China, January–March 2020: retrospective cohort study. *BMJ* 2020;369:m1443.
- [21] Penn R, Ward BJ, Strande L, Maurer M. Review of synthetic human faeces and faecal sludge for sanitation and wastewater research. *Water Res* 2018;132:222–40.
- [22] McMahan CS, Self S, Rennert L, Kalbaugh C, Kriebel D, Graves D, et al. COVID-19 wastewater epidemiology: a model to estimate infected populations. *Lancet Planet Health* 2021;5(12):e874–81.
- [23] Ling Y, Xu SB, Lin YX, Tian D, Zhu ZQ, Dai FH, et al. Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients. *Chin Med J* 2020;133(9):1039–43.
- [24] Guo M, Tao W, Flavell RA, Zhu S. Potential intestinal infection and faecal–oral transmission of SARS-CoV-2. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;18(4):269–83.
- [25] Li Ka Shing Faculty of Medicine of The University of Hong Kong. Clarification on the interpretation of daily point prevalence of the HKU real-time community surveillance initiative [Internet]. Hong Kong: The University of Hong Kong; 2023 Jan 03 [cited 2023 May 25]. Available from: <https://www.med.hku.hk/en/news/press/20230103-real-time-community-surveillanceinitiative>.
- [26] Tsang NNY, So HC, Cowling BJ, Leung GM, Ip DKM. Effectiveness of BNT162b2 and CoronaVac COVID-19 vaccination against asymptomatic and symptomatic infection of SARS-CoV-2 omicron BA.2 in Hong Kong: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2022;23(4):421–34.
- [27] Lau JJ, Cheng SMS, Leung K, Lee CK, Hachim A, Tsang LCH, et al. Real-world COVID-19 vaccine effectiveness against the Omicron BA.2 variant in a SARS-CoV-2 infection-naïve population. *Nat Med* 2023;29(2):348–57.
- [28] Elliott P, Bodinier B, Eales O, Wang H, Haw D, Elliott J, et al. Rapid increase in Omicron infections in England during December 2021: REACT-1 study. *Science* 2022;375(6587):1406–11.
- [29] Leung K, Lau EHY, Wong CKH, Leung GM, Wu JT. Estimating the transmission dynamics of SARS-CoV-2 Omicron BF.7 in Beijing after adjustment of the zero-COVID policy in November–December 2022. *Nat Med* 2023;29(3):579–82.
- [30] Lin Y, Yang B, Cobey S, Lau EHY, Adam DC, Wong JY, et al. Incorporating temporal distribution of population-level viral load enables real-time estimation of COVID-19 transmission. *Nat Commun* 2022;13(1):1155.
- [31] Carcereny A, Martinez-Velazquez A, Bosch A, Allende A, Truchado P, Cascales J, et al. Monitoring emergence of the SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant through the Spanish national SARS-CoV-2 wastewater surveillance system (VATar COVID-19). *Environ Sci Technol* 2021;55(17):11756–66.
- [32] Ho J, Stange C, Suhrborg R, Wurzbacher C, Drewes JE, Tiehms A. SARS-CoV-2 wastewater surveillance in Germany: long-term RT-digital droplet PCR monitoring, suitability of primer/probe combinations and biomarker stability. *Water Res* 2022;210:117977.
- [33] Agrawal S, Orschler L, Schubert S, Zachmann K, Heijnen L, Tavazzi S, et al. Prevalence and circulation patterns of SARS-CoV-2 variants in European sewage mirror clinical data of 54 European cities. *Water Res* 2022;214:118162.
- [34] 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(7):511–6.
- [35] The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. Government announces adjustments to quarantine arrangements for inbound persons [internet]. Hong Kong: The Government of the Hong Kong Special Administrative Region; 2022 Aug 08 [cited 2023 May 25]. Available from: <https://www.info.gov.hk/gia/general/202208/08/P2022080800803.htm>.
- [36] The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. Government announces lifting of compulsory quarantine requirement on arrival at Hong Kong [internet]. Hong Kong: The Government of the Hong Kong Special Administrative Region; 2022 Sep 24 [cited 2023 May 25]. Available from: <https://www.info.gov.hk/gia/general/202209/24/P2022092400048.htm>.
- [37] Flacco ME, Acuti Martellucci C, Baccolini V, De Vito C, Renzi E, Villari P, et al. Risk of reinfection and disease after SARS-CoV-2 primary infection: meta-analysis. *Eur J Clin Invest* 2022;52(10):e13845.
- [38] Puhach O, Meyer B, Eckerle I. SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics. *Nat Rev Microbiol* 2023;21:147–61.