
ÉPIDÉMIOLOGIE BASÉE SUR LES EAUX USÉES POUR LE SRAS-COV-2

Steve E. Hrudehy, Nicholas J. Ashbolt, Judith L. Isaac-Renton, R. Michael McKay, Mark R. Servos | June 16, 2020

La surveillance de la santé de la population est une pierre angulaire de l'intervention en santé publique menée pour lutter contre la pandémie et gérer les risques associés. Cette surveillance s'appuie sur une évaluation efficace des données recueillies sur l'incidence (nouveaux cas), sur la prévalence (nombre total de cas) ainsi que sur la répartition géographique de la maladie au cours d'une période donnée pour une population touchée. L'actuelle pandémie de la COVID-19 a posé d'énormes défis logistiques liés à la réalisation et au maintien d'une surveillance efficace de la population. La population n'ayant pas acquis une large immunité, les mesures de santé publique visant à freiner la propagation de la COVID-19 se limitent au dépistage des cas, au traçage des contacts et à l'isolement des personnes infectées des personnes vulnérables non infectées. L'ampleur et l'augmentation rapide du taux d'infection à la COVID-19, particulièrement pendant la période d'explosion exponentielle des nouveaux cas, posent un défi de taille quant à la mise en œuvre de ces mesures. Au milieu du mois de juin, approximativement 2 millions de Canadiens, pour la plupart des personnes symptomatiques ou considérées comme ayant été exposées à des cas actifs, ont été testés et près de 100 000 tests de COVID-19 effectués se sont révélés positifs. Les défis logistiques posés par la sélection des personnes et la réalisation d'un si grand nombre de tests cliniques ont été énormes. Et le défi reste entier; une personne dont le test a été négatif aujourd'hui pourrait recevoir un résultat positif demain. De plus, les tests diagnostiques ne sont pas parfaits, puisqu'ils ne sont ni totalement spécifiques ni parfaitement sensibles (Younes *et al.*, 2020). Les faux négatifs et les faux positifs peuvent déjouer les mesures individuelles de gestion des risques sanitaires (Wikramaratna *et al.*, 2020).

Compte tenu des énormes défis de gestion des risques sanitaires posés par ces réalités logistiques et pratiques, une technique complémentaire de surveillance globale de la population suscite une attention internationale qui prend rapidement de l'ampleur – l'épidémiologie basée sur les eaux usées (ÉBEU). Le concept est simple : utiliser les eaux usées comme échantillon composite d'une collectivité entière afin d'obtenir des indications quantitatives sur la prévalence d'une infection. Les populations urbaines des pays développés disposent de vastes réseaux d'eaux usées qui captent l'eau rejetée par les toilettes et les lessiveuses, et toutes les autres eaux ménagères de l'ensemble de la population, et les dirigent vers une usine de traitement des eaux usées (UTEU) qui en retirera les polluants, avant de rejeter l'eau dans l'environnement. L'échantillonnage et l'analyse des eaux usées dans les UTEU se fait régulièrement en réponse aux exigences réglementaires provinciales. Un échantillon composite de 24 heures de l'affluent d'eaux usées fournit une représentation des matières fécales collectivement rejetées par l'ensemble de la population de la collectivité urbaine desservie par l'UTEU au cours de la journée – ce qui équivaut à un prélèvement à l'échelle de la collectivité. Comme le SRAS-CoV-2 est excrété dans les selles des personnes infectées (Chen *et al.* 2020, Cheung *et al.*, 2020, Holshue *et al.*, 2020, Wang W. *et al.*, 2020, Woelfel *et al.*, 2020, Xiao *et al.*, 2020, Xu *et al.*, 2020) les échantillons des eaux d'égout peuvent potentiellement fournir une mesure du taux d'infection à la COVID-19 de la population entière.

Des chercheurs aux Pays-Bas ont très tôt reconnu l'utilité potentielle de la surveillance des eaux usées. Heijnen et Medema (2011), de l'Institut néerlandais du recyclage des eaux usées (KWR), échantillonnaient déjà les eaux usées pour le suivi de l'influenza. Medema *et al.* (2020a, 2020b) ont eu la présence d'esprit de commencer à échantillonner les eaux usées pour déceler les signes génétiques de la présence de

SRAS-CoV-2 dans les eaux usées de six collectivités et de l'aéroport international de Schipol au début de février 2020, avant que tout cas clinique ait été signalé aux Pays-Bas. À l'aide d'une méthode moléculaire quantitative (q) appelée la transcription inverse - amplification en chaîne de la polymérase (TI-ACP), la base des tests cliniques de dépistage du virus à ARN qui cause la COVID-19, ils ont pu déceler tôt les premiers cas de SRAS-CoV-2. Ils ont fait état de 2,6 à 30 fragments par ml de matériel génétique appartenant au SRAS-CoV-2 au début de mars pour trois des six collectivités échantillonnées, y compris pour une collectivité où aucun cas clinique n'avait été signalé au moment de l'échantillonnage. Lorsque la COVID-19 s'est propagée aux Pays-Bas au mois de mars, le signal génétique fourni par les eaux usées s'est amplifié en corrélation avec l'augmentation de la prévalence des cas cliniques. Au cours des dix semaines qui ont suivi cette étude néerlandaise avant-gardiste, le nombre de rapports préimpression et publiés fondés sur l'ÉBEU en provenance de l'Australie, de la France, d'Israël, de l'Italie, du Japon, de l'Espagne et des États-Unis a connu une croissance rapide (Ahmed *et al.*, 2020; Bar-Or *et al.*, 2020, LaRosa *et al.*, 2020; Nemudryi *et al.*, 2020; Peccia *et al.*, 2020; Randazzo *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020; Wurzer *et al.*, 2020). Suffisamment d'expérience a été acquise pour confirmer que l'analyse TI-ACP des eaux usées peut fournir des résultats d'ÉBEU concluants, si elle est correctement réalisée.

L'ÉBEU a été employée à diverses fins, telles que le suivi de la consommation de drogues par la population (Castiglioni *et al.*, 2013, Choi *et al.*, 2018) et de la résistance aux antimicrobiens (Hendricksen *et al.*, 2019). En particulier, l'ÉBEU a été utilisée pour suivre la présence de virus au sein de la population, notamment pour surveiller l'efficacité des programmes de vaccination contre la polio (Berchenko *et al.*, 2017, Hovi *et al.*, 2012; Lago *et al.*, 2003; Lodder *et al.*, 2012) et pour assurer un suivi des maladies infectieuses comme l'hépatite, (Helmer *et al.*, 2014, LaRosa *et al.*, 2010) le norovirus et l'influenza (Heijnen and Medema, 2011, Kazama *et al.*, 2017, Vincent *et al.*, 2007). Plusieurs auteurs ont réclamé une adoption large de méthodes d'ÉBEU pour lutter contre la pandémie de la COVID-19 (Daughton, 2020, Finkel, 2020, Hart et Halden, 2020, Mao *et al.*, 2020a, b, Orive *et al.*, 2020, Sims et Kasprzyk-Hordern, 2020). Des programmes régionaux et nationaux de surveillance des eaux usées ont été lancés ou sont sur le point de l'être en Australie, dans l'Union européenne, en Finlande, en Allemagne, aux Pays-Bas, à Singapour, en Afrique du Sud, en Suède et aux États-Unis. Le réseau européen [NORMAN](#) de laboratoires de référence et de centres de recherche coordonne l'élaboration de protocoles d'échantillonnage, d'analyse et d'interprétation des données pour l'ÉBEU du SRAS-CoV-2. Une collaboration internationale en ligne sur l'ÉBEU pour la surveillance de la COVID-19 ([COVID-19 WBE Collaborative](#)) a été lancée par 58 chercheurs de 13 pays, pour fournir un carrefour de coordination et de promotion des efforts des groupes de recherche dans ce domaine (Bivins *et al.*, 2020).

Où se situe le Canada sur cette question? Le [Réseau canadien de l'eau](#) (RCE), est un organisme qui s'est appuyé sur ses 16 années d'expérience accumulées en tant que réseau de centres d'excellence financé par le gouvernement fédéral pour devenir un important conservateur et diffuseur national du savoir sur les décisions qui touchent l'eau. Le RCE a établi le [Consortium sur les eaux urbaines du Canada](#), qui dessert les services publics de gestion des eaux municipales du Canada et qui comprend un groupe de leaders composé de décideurs de haut niveau de 23 des plus importants services publics de traitement des eaux du Canada. À titre de représentant canadien de la [Global Water Research Coalition](#), le RCE participe directement à la planification stratégique des principaux organismes de financement de la recherche sur l'eau de l'Australie, de la France, de l'Allemagne, des Pays-Bas, de l'Afrique du Sud, de Singapour, du Royaume-Uni et des États-Unis, des pays qui participent tous à l'évaluation de l'ÉBEU pour la lutte contre la COVID-19. Depuis la fin d'avril, plusieurs réunions internationales en ligne ont été tenues sur les applications possibles de l'ÉBEU et les défis associés par la [Water Research Foundation](#), pour les

chercheurs, les services publics et le personnel du Congrès des États-Unis, le [Water Science and Technology Board](#) des National Academies des États-Unis et l'[Organisation mondiale de la Santé](#).

À la fin d'avril, le RCE a lancé la [Coalition eaux usées COVID-19](#) dans le but de promouvoir le recours à l'ÉBEU pour surveiller la propagation de la COVID-19 au Canada. Le principal objectif de la Coalition est de faciliter la mise en œuvre d'un projet pilote national de validation de principe pour : 1) évaluer rapidement la capacité de cette technique à être mise en pratique de façon utile au Canada et 2) identifier les éléments clés de l'approche qui devraient être intégrés dans un programme de surveillance national. Le RCE a constitué un [Groupe consultatif de recherche](#) national ayant le mandat de guider les progrès réalisés en vue de surmonter les défis scientifiques et techniques posés par l'utilisation de l'ÉBEU pour lutter contre le SRAS-CoV-2, ainsi qu'un groupe consultatif national sur la santé publique ayant comme mandat de conseiller les décideurs du domaine de la santé publique sur les besoins soulevés par l'utilisation de l'ÉBEU. La Coalition a défini un ensemble de principes pour orienter l'étude pilote, des modèles conceptuels pertinents pour le projet et un protocole préliminaire de prélèvement, de traitement et d'analyse des échantillons. Un programme d'évaluation de la compétence des laboratoires et de tests comparatifs interlaboratoires est en cours d'élaboration. Comme l'expérience internationale en la matière évolue rapidement, le projet de protocole est un document évolutif qui sera révisé et amélioré en fonction de l'expérience acquise. Le RCE coordonne également ses efforts avec une étude de validation des méthodes récemment annoncée aux États-Unis, laquelle est financée par la [Water Research Foundation](#).

L'échantillonnage des eaux usées pour l'ÉBEU vise principalement les eaux d'égout non traitées, ce qui permet à l'ÉBEU d'être utilisée indépendamment des différentes technologies d'épuration utilisées en aval des usines de traitement. La faisabilité de la collecte d'échantillons représentatifs représente un facteur clé et c'est pourquoi les prises d'eau des usines centralisées de traitement constituent les meilleurs sites d'échantillonnage. Toutefois, si les méthodes et les données peuvent être validées et les risques liés à l'échantillonnage peuvent être réduits au minimum, la possibilité de recueillir des échantillons à partir des regards et des stations de pompage des eaux d'égout favoriserait des stratégies d'ÉBEU plus ciblées pour les sites du réseau qui sont soupçonnés de présenter un risque élevé. Par suite des décisions prises de rouvrir plusieurs campus aux États-Unis à l'automne, certains chercheurs explorent l'idée de surveiller les égouts des campus pour éclairer les décisions des autorités de la santé et des administrateurs des universités. Quelle que soit la stratégie d'échantillonnage utilisée, il sera manifestement nécessaire de comprendre la nature du réseau d'égout échantillonné pour bien interpréter les résultats des études d'ÉBEU.

L'ÉBEU n'est pas une solution miracle et elle ne peut certainement pas remplacer une vaste campagne soutenue de tests cliniques, de traçage des contacts et d'isolement des personnes infectées. Les informations individuelles recueillies sur les personnes infectées demeureront nécessaires. Mais la possibilité inhérente qu'offre un unique échantillon composite d'ÉBEU d'évaluer la présence de SRAS-CoV-2 dans les rejets fécaux de milliers ou de millions de personnes issues de tous les groupes socioéconomiques (Murakami *et al.*, 2020) mérite d'être évaluée. La possibilité pour l'ÉBEU de fournir des données supplémentaires et complémentaires sur les tendances de propagation de la COVID-19, potentiellement des jours, voire une semaine avant l'acquisition de données cumulatives liées aux tests cliniques normalement motivés par l'apparition de symptômes ou l'exposition à des cas suspectés, mérite aussi d'être examinée. Or, une telle approche n'a pas été largement utilisée au Canada, peut-être parce que la gestion des eaux usées appartient à un secteur administratif distinct de celui de la surveillance de

la santé publique. Si la compréhension des données d'ÉBEU est limitée, mettre à l'épreuve la méthode de l'ÉBEU serait une façon très simple d'en déterminer l'utilité.

La possibilité de repérer plus largement et plus tôt les points chauds, de cerner les conséquences d'un assouplissement des règles de confinement et de fermeture de frontières et de déceler les signes précoces de la nécessité d'accentuer les efforts de surveillance clinique permettrait d'améliorer l'efficacité des mesures conventionnelles de santé publique et le déploiement des ressources. Un projet pilote bien organisé et soigneusement réalisé pourrait renforcer la confiance des responsables de la santé publique dans les données d'ÉBEU, en confirmant que les laboratoires canadiens sont en mesure d'obtenir des résultats d'ÉBEU probants et de les transmettre dans de brefs délais. Soutenir un tel projet pilote représente un investissement relativement modeste, mais dont les retombées quant à la prise de décisions pour lutter contre la pandémie sont potentiellement d'une grande valeur. Bien que le prélèvement et le traitement des échantillons d'eaux d'égout comprennent des étapes supplémentaires qui ne sont pas nécessaires pour la réalisation des tests cliniques, il va de soi que le nombre d'analyses requis pour mettre en œuvre un programme d'ÉBEU est beaucoup plus faible. Il est essentiel de mettre sur pied un projet pilote au Canada, pendant que le nombre de nouveaux cas diminue, afin de nous préparer à affronter les vagues subséquentes d'infection prévues (More *et al.*, 2020).

L'intérêt des chercheurs canadiens pour l'ÉBEU est grand et continue de croître. Plusieurs municipalités, établissements et camps industriels éloignés se demandent comment mettre en pratique l'ÉBEU. Malheureusement, les gouvernements fédéral et provinciaux n'ont pas encore trouvé le moyen de soutenir un projet pilote national de validation de principe, malgré les manifestations de soutien accordées par divers responsables gouvernementaux, plusieurs municipalités et le personnel local des autorités de la santé publique. Quelques groupes de recherche au Canada ont reçu des fonds de recherche qui contribueront à l'avancement de l'ÉBEU au Canada.

L'intérêt croissant pour l'ÉBEU attire également des chercheurs ayant des degrés d'expérience très divers dans l'utilisation des techniques requises, mais qui peuvent estimer être en mesure de développer la capacité de fournir des services d'ÉBEU aux municipalités et aux établissements. Les utilisateurs potentiels de l'ÉBEU doivent faire preuve d'une diligence raisonnable lorsqu'ils s'assurent des services de traitement et d'analyse pour déceler la présence de SRAS-CoV-2 dans les eaux usées. Bien que certains éléments des techniques nécessaires soient largement utilisés, les eaux usées constituent une matrice complexe, et la combinaison de connaissances, d'expérience et de compétences requise pour produire des résultats précis, reproductibles et pertinents à l'aide d'un programme d'ÉBEU n'est pas simple à réunir. Une assurance et un contrôle de la qualité rigoureux et exhaustifs en matière de prélèvement, de traitement et d'analyse des échantillons sont essentiels pour obtenir des résultats probants. Aider le Canada à mieux cerner et évaluer ce qui doit être fait et ce à quoi pourrait ressembler une utilisation fiable de cette technique est la justification fondamentale qui sous-tend la Coalition eaux usées COVID-19 et les études pilotes proposées.

Les retombées futures de l'application de l'ÉBEU peuvent dépasser le cadre de la pandémie de la COVID-19. Les méthodes moléculaires de caractérisation des marqueurs sensibles de pathogènes sur le plan conceptuel peuvent aider à adapter l'ÉBEU à une surveillance de la population pour presque tout agent pathogène, et même pour des groupes particuliers de gènes (par exemple pour la résistance aux antimicrobiens). Optimiser les procédures de surveillance des signes de la présence d'agents infectieux dans les eaux usées des collectivités permettrait d'assurer une surveillance efficace de la population lors

d'éventuelles épidémies et une surveillance des maladies endémiques, ce qui constituerait pour le Canada une retombée positive durable de son expérience de la pandémie de la COVID-19.

Références citées

- Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., O'Brien, J.W., Choi, P.M., Kitajima, M., Simpson, S.L. and Li, J. 2020. 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.*, 728: 138764.
- Bar-Or, I., Yaniv, K., Shagan, M., et al. 2020. Regressing SARS-CoV-2 sewage measurements onto COVID-19 burden in the population: a proof-of-concept for quantitative environmental surveillance. *medRxiv*. doi.org/10.1101/2020.04.26.20073569
- Bivins, A., North, D., Ahmad, A. et al. 2020. Wastewater-Based Epidemiology: Global collaborative to maximize contributions in the fight against COVID-19. *Environ. Sci. Technol.* dx.doi.org/10.1021/acs.est.0c02388
- Berchenko, Y., Manor, Y., Freedman, L. S., Kaliner, E., Grotto, I., Mendelson, E. and Huppert, A. 2017. Estimation of polio infection prevalence from environmental surveillance data. *Sci. Transl. Med.* 9: (383).
- Castiglioni, S., Bijlsma, L., Covaci, A., Emke, E., Hernández, F., Reid, M., Ort, C., Thomas, K. V., Van Nuijs, A. L., De Voogt, P., Zuccato, E. 2013. Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Environ. Sci. Technol.* 47 (3): 1452–1460.
- Chen, Y., Chen, L., Deng, Q., et al. 2020. The presence of SARS-CoV-2 RNA in feces of COVID-19 patients. *J. Med. Virol.* 92: 833–840 doi:10.1002/jmv.25825
- Cheung, K. S.; Hung, I. F.; Chan, P. P., et AL. 2020. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples from the Hong Kong Cohort and Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2020 doi: 10.1053/j.gastro.2020.03.065
- Choi, P.M., Tschärke, B. J., Donner, E., O'Brien, J. W., Grant, S.C., Kaserzon, S. L., Mackie, R., O'Malley, E., Crosbie, N. D., Thomas, K. V., Mueller, J. F. 2018. Wastewater-based epidemiology biomarkers: past, present and future. *Trends Anal. Chem. (TrAC)* 105: 453–469.
- Daughton, C. 2020. The international imperative to rapidly and inexpensively monitor community-wide Covid-19 infection status and trends. *Sci. Total Environ.* 726: 138149
- Finkel, A. (2020). Advice on the feasibility of monitoring wastewater for early detection and monitoring of COVID-19 in the population. Report from Australia's Chief Scientist to the Australian Minister of Health. 21 April, 2020. Canberra, ACT, Australia.
- Hart, O. E. & Holden, R. U. 2020. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. *Sci. Tot. Environ.* 730: 138875.
- Heijnen, L. and Medema, G. 2011. Surveillance of influenza A and the pandemic influenza A (H1N1) 2009 in sewage and surface water in the Netherlands. *J. Water Health* 9, 434–442.
- Helmer, M., Paxéus, N., Magnus, L. et al., 2014. Detection of pathogenic viruses in sewage provided early warnings of hepatitis A virus and norovirus outbreaks. *Appl. Environ. Microbiol.* 80(21): 6771–6781.
- Hendriksen, R. S., Munk, P., Njage, P., et al. 2019. Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage. *Nature Commun.* 10 (1): 1124.

-
- Holshue, M., DeBolt, C., Lindquist, S., et al. 2020. First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *N. Engl. J. Med.* 382, 929–936.
- Hovi, T., Shuman, L. M., Van Der Avoort, H., Deshpande, J., Roivainen, M., De Gourvilles, E. M. 2012. Role of environmental poliovirus surveillance in global polio eradication and beyond. *Epidemiol. Infect.* 140: 1–13.
- Kazama, S., Miura, T., Masago, Y., et al. 2017. Environmental Surveillance of Norovirus Genogroups I and II for Sensitive Detection of Epidemic Variants. *Appl. Environ. Microbiol.* 83(9): e03406-16
- Lago, P., Gary, H.E., Perez, L.S., et al. (2003). Poliovirus detection in wastewater and stools following an immunization campaign in Havana, Cuba. *Int. J. Epidemiol.* 32: 772–777.
- LaRosa, G., Iaconelli, M., Mancinic, P., et al. 2020. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci. Tot. Environ.* 736: 139652.
- LaRosa, G., Pourshaban, M., Iaconelli, M., Vennarucci, V.S., Muscillo, M. 2010. Molecular detection of hepatitis E virus in sewage samples. *App. Environ. Microbiol.* 76(17): 5870–5873.
- Lodder, W.J., Buisman, A.M., Rutjes, S.A., Heijne, J.C., Teunis, P.F., de Roda Husman, A.M. 2012. Feasibility of quantitative environmental surveillance in poliovirus eradication strategies. *App. Environ. Microbiol.* 78(11): 3800–3805.
- Mao, K., Zhang, K., Yang, Z. 2020a. Can a Paper-Based Device Trace COVID-19 Sources with Wastewater-Based Epidemiology? *Environ. Sci. Technol.* 54: 3733–3735.
- Mao, K., Zhang, K., Du, W., Ali, W., Feng, X. & Zhang, H. 2020b. The potential of wastewater-based epidemiology as surveillance and early warning of infectious disease outbreaks. *Curr. Opin. Environ. Sci. Hlth.* doi.org/10.1016/j.coesh.2020.04.006.
- Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., Brouwer, A. 2020a. Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage. *medRxiv* 2020.03.29.20045880. doi:10.1101/2020.03.29.20045880
- Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., Brouwer, A. 2020b. 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.* DOI: 10.1021/acs.estlett.0c00357
- Moore, K. A.; Lipsitch, M.; Barry, J. M.; Osterholm, M. T. 2020. *COVID-19: The CIDRAP Viewpoint. April 30th, 2020. Part 1: The Future of the COVID-19 Pandemic: Lessons Learned from Pandemic Influenza*; Centre for Infectious Disease Research and Policy: University of Minnesota. https://www.cidrap.umn.edu/sites/default/files/public/downloads/cidrap-covid19-viewpoint-part1_0.pdf
- Murakami, M.; Hata, A.; Honda, R.; Watanabe, T., 2020. Letter to the Editor: Wastewater-Based Epidemiology Can Overcome Representativeness and Stigma Issues Related to COVID-19. *Environ. Sci. Technol.* 54 (9): 5311.
- Nemudryi, A., Nemudraia, A., Surya, K., Wiegand, T., Buyukyoruk, M., Wilkinson, R. & Wiedenheft, B. (2020). Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *medRxiv.* doi.org/10.1101/2020.04.15.20066746.
- Orive, G., Lertxundi, U., Barcelo, D. 2020. Early SARS-CoV-2 outbreak detection by sewage-based epidemiology. *Sci. Tot. Environ.* 732: 139298.
- Peccia, J., Zulli, A., Doug E. Brackney, D.E., et al. 2020. SARS-CoV-2 RNA concentrations in primary municipal sewage sludge as a leading indicator of COVID-19 outbreak dynamics. *medRxiv* doi.org/10.1101/2020.05.19.20105999
- Randazzo, W., Truchado, P., Cuevas-Ferrando, E., Simón, P., Allende, A., Sánchez, G. 2020. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area, *Water Res.* doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942 .
-

-
- Sims, N. & Kasprzyk-Hordern, B. 2020. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environ. Int.* 105689. doi:10.1016/j.envint.2020.10568
- Vincent, V., Scott, H. M., Harvey, R. B., Alali, W. Q. and Hume, M. E. 2007. Novel surveillance of Salmonella enterica serotype Heidelberg epidemics in a closed community. *Foodborne Pathog. Dis.* 4(3): 375-85.
- Wang, W., Xu, Y., Gao, R., et al. 2020. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 323(18): 1843-1844. doi:10.1001/jama.2020.3786
- Wikramaratna, P.; Paton, R.S.; Ghafari, M.; Lourenco, J. 2020. Estimating false-negative detection rate of SARSCoV-2 by RT-PCR. *medRxiv.* doi:10.1101/2020.04.05.20053355.
- Woelfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., et al. 2020. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 581: 465-469. doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x.
- Wu, F., Xiao, A., Zhang, J., Gu, X., Lee, W.L., Kauffman, K., Hanage, W., Matus, M., Ghaeli, N. and Endo, N. (2020) SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *medRxiv.*
- Wurtzer, S., Marechal, V., Mouchel, J.-M., Moulin, L. 2020. Time course quantitative detection of SARS-CoV-2 in Parisian wastewaters correlates with COVID-19 confirmed cases. *medRxiv.* doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679.
- Xiao, F., Sun, J. , Xu, Y. et al. 2020. Infectious SARS-CoV-2 in Feces of Patient with Severe COVID-19. *Emerg. Infect. Dis.* 26(8).
- Xu, Y.; Li, X.; Zhu, B.; Liang, H.; Fang, C.; Gong, Y.; Guo, Q.; Sun, X.; Zhao, D.; Shen, J. 2020. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nature Med.* 26: 502–505
- Younes, N.; Al-Sadeq, D. W.; Al-Jighefee, H.; Younes, S.; Al-Jamal, O.; Daas, H. I.; Yassine, H. M.; Nasrallah, G. K., Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses* 2020, 12, (6).
-