



Tác giả chính:  
TS. Vũ Đức Cảnh

Đơn vị công tác: Khoa Kỹ thuật Môi trường, Đại Học Tokyo, Nhật Bản

Email: [canh@env.t.u-tokyo.ac.jp](mailto:canh@env.t.u-tokyo.ac.jp);  
[yuduccanh52mn3@gmail.com](mailto:yuduccanh52mn3@gmail.com)

TS. Vũ Đức Cảnh tốt nghiệp kỹ sư ngành cấp thoát nước trường đại học xây dựng năm 2012, tốt nghiệp thạc sỹ và tiến sỹ ngành kỹ thuật môi trường, trường đại học Tokyo năm 2015 và 2020. Anh từng làm việc tại Viện khoa học và kỹ thuật môi trường, trường đại học Xây dựng (2012-2015). Hiện tại, TS. Vũ Đức Cảnh đang là nghiên cứu viên theo chương trình JSPS của Nhật Bản tại trường đại học Tokyo. Lĩnh vực nghiên cứu chính của anh tập trung vào phát triển các phương pháp phân tích vi rút trong môi trường nước và đánh giá đặc tính của vi rút gây bệnh trong hệ thống nước đô thị. Bên cạnh đó, TS. Cảnh cũng là thành viên ban điều hành Mạng lưới học thuật người Việt Nam tại Nhật Bản (VANJ) từ những ngày đầu thành lập (2016 đến nay).

<https://doi.org/10.15625/vap.2021.0017>

## Giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua quan trắc nước thải tại Nhật Bản

Vũ Đức Cảnh<sup>1</sup> và Phạm Ngọc Bảo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Nghiên cứu viên, Khoa Kỹ Thuật Môi Trường, Đại Học Tokyo, Tokyo, Nhật Bản

<sup>2</sup> Chuyên gia cao cấp về Nước và Vệ sinh, Viện Chiến lược Môi trường Toàn cầu, Kanagawa, Nhật Bản

### TÓM TẮT:

Đại dịch COVID-19 gây ra bởi vi rút SARS-CoV-2 đang là mối lo ngại trên toàn thế giới. Do đó, các giải pháp dự đoán và đánh giá tình hình lây nhiễm của vi rút SARS-CoV-2 trong cộng đồng đóng vai trò rất quan trọng trong việc kiểm soát dịch bệnh COVID-19. Gần đây, vi rút SARS-CoV-2 được phát hiện phổ biến trong phân của các bệnh nhân COVID-19 (bao gồm cả những người có triệu chứng nhẹ và không có triệu chứng) cũng như trong nước thải tại các trạm xử lý nước thải sinh hoạt. Qua đó, nhiều nhóm nghiên cứu trên thế giới đã quan trắc vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải để đánh giá/dự đoán tình hình dịch bệnh COVID-19 trong cộng đồng. Bài viết dưới đây tập trung đánh giá tiềm năng sử dụng giải pháp giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua quan trắc nước thải nước thải, dựa trên các nghiên cứu được thực hiện gần đây tại Nhật Bản. Các nghiên cứu này cho thấy SARS-CoV-2 RNA có thể được phát hiện trong nước thải khi trong cộng đồng có số ca COVID-19 tương đối thấp (< 1/100.000 người). Hơn nữa, quan trắc nước thải cũng phát hiện được SARS-CoV-2 RNA trước cả khi có ca COVID-19 được phát hiện tại các cơ sở y tế. Điều này chứng tỏ tiềm năng lớn trong việc ứng dụng kỹ thuật quan trắc nước thải để dự báo sớm dịch bệnh COVID-19 lây lan trong cộng đồng.

**Từ khóa:** COVID-19, SARS-CoV-2, nước thải, dịch tễ học

### 1. Giới thiệu

Đại dịch COVID-19 gây ra bởi vi rút SARS-CoV-2 đang là mối lo ngại trên toàn thế giới khi mà vi rút này đã lây lan trên 200 quốc gia với tổng số ca mắc bệnh trên 160 triệu người và 3.3 triệu người tử vong [1]. Dịch bệnh vẫn chưa có dấu hiệu ổn định, thậm chí số ca lây nhiễm liên tục phá vỡ kỷ lục về số ca mắc mới, đặc biệt tại Ấn Độ, Nepal, Campuchia và Thái Lan trong thời gian gần đây. Do đó, các giải pháp dự đoán, đánh giá, cảnh báo sớm tình hình lây nhiễm của vi rút SARS-CoV-2 trong cộng đồng đóng vai trò rất quan trọng trong việc kiểm soát dịch bệnh COVID-19.

Vi rút SARS-CoV-2 được phát hiện trong phân và nước tiểu của bệnh nhân COVID-19 trong rất nhiều nghiên cứu gần đây [2]. Quan trọng hơn, SARS-CoV-2 được tìm thấy trong phân của không chỉ những người bệnh có triệu chứng mà còn cả đối với những người có triệu chứng nhẹ hoặc không có triệu chứng. Trên thực tế, tỷ lệ người nhiễm vi rút SARS-CoV-2 không có triệu chứng chiếm khoảng 18-50% [3]. Do đó, có thể thấy số liệu ca nhiễm bệnh ghi nhận tại các cơ sở y tế không phản ánh đúng và thường thấp hơn so với số lượng nhiễm bệnh

thực tế do những người có triệu chứng nhẹ hoặc không có triệu chứng thường không đi khám tại các cơ sở y tế.

Do phân và nước thải của người dân được thu gom và vận chuyển về các trạm xử lý nước thải, nên các nghiên cứu gần đây cũng phát được hiện vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải ở nhiều quốc gia trên thế giới, đặc biệt là tại các quốc gia phát triển (như Mỹ, Úc, Tây Ban Nha, Hà Lan..vv). Một số nghiên cứu cũng chỉ ra mối liên hệ tuyến tính giữa nồng độ vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải và số lượng ca nhiễm bệnh COVID-19 trong cộng đồng [2], [4]. Điều này cho thấy tiềm năng về sử dụng giải pháp dịch tễ học nước thải hoặc giám sát nước thải đối với vi rút SARS-CoV-2 để đánh giá/dự đoán tình hình dịch bệnh COVID-19 trong cộng đồng. Giải pháp này có thể đánh giá được tình trạng lây nhiễm vi rút SARS-CoV-2 trong cộng đồng một cách toàn diện do phản ánh được toàn cảnh bức tranh bao gồm cả những người có triệu chứng và không có triệu chứng.

Hiện nay, giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua quan trắc vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải đã được nghiên cứu ở nhiều quốc gia trên thế giới đặc biệt là ở các quốc gia có dịch bệnh bùng phát mạnh như Mỹ và Pháp. Mặc dù tiềm năng, nhưng giải pháp này vẫn còn nhiều thách thức cần được giải quyết, đặc biệt liên quan đến các phương pháp phân tích vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải cũng như xác định mối liên hệ giữa nồng độ vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải và số lượng ca nhiễm bệnh trong cộng đồng.

Tại Nhật Bản, ca mắc bệnh COVID-19 được ghi nhận đầu tiên vào khoảng tháng 1, năm 2020. Tại thời điểm đó, một số nhóm nghiên cứu tại Nhật Bản cũng đã quan trắc nước thải để đánh giá tiềm năng ứng dụng dịch tễ học nước thải đối với vi rút SARS-CoV-2. Đặc biệt là khảo sát độ nhạy của phương pháp này khi số lượng ca mắc bệnh của Nhật Bản tại thời điểm đó chưa cao. Bên cạnh đó, các quy trình phân tích vi rút SARS-CoV-2 đóng vai trò rất quan trọng trong giải pháp dịch tễ học nước thải đối với COVID-19. Tuy nhiên, hiện nay chưa có quy trình tiêu chuẩn dành cho việc phân tích vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải. Các nghiên cứu hiện tại đang sử dụng các quy trình phân tích dành cho vi rút đường ruột trong khi vi rút SARS-CoV-2 có cấu trúc hoàn toàn khác. Cụ thể, SARS-CoV-2 có cấu trúc bao ngoài (bao gồm bộ gen RNA, lớp vỏ protein và lớp lipid bao phía ngoài) trong khi các vi rút đường ruột có cấu trúc không bao ngoài (không có lớp lipid bao phía ngoài). Một số nhóm nghiên cứu của Nhật Bản cũng đã khảo sát và đánh giá quy trình phân tích tối ưu cho vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải.

Do vậy, bài viết này tập trung vào tổng hợp thông tin từ các nhóm nghiên cứu tại Nhật Bản về vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải, các quy trình phân tích vi rút SARS-CoV-2, cũng như đánh giá tiềm năng về việc áp

dụng giải pháp giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua quan trắc nước thải tại Nhật Bản.

## 2. Vi rút SARS-CoV-2 được phát hiện trong nước thải sinh hoạt tại Nhật Bản

SARS-CoV-2 RNA trong nước thải sinh hoạt đã được phát hiện ở nhiều quốc gia trên thế giới như Mỹ, Pháp, Hà Lan, Ý, Úc, Tây Ban Nha, Ấn Độ, Pakistan và Trung Quốc [2]. Tại Nhật Bản, khi thu thập các mẫu nước thải (trước khi xử lý) tại tỉnh Yamanashi, SARS-CoV-2 RNA được tìm thấy ở nồng độ  $2.4 \times 10^3$  copies/L [5]. Trong các nghiên cứu khác tại Nhật, SARS-CoV-2 RNA trong nước thải cũng được tìm thấy ở nồng độ tương tự, cụ thể  $1.2-3.5 \times 10^4$  copies/L tại tỉnh Ishikawa và Toyama, và  $< 6.0 \times 10^3 - 4.1 \times 10^4$  copies/L tại Tokyo [6], [7].

Khi so sánh với một số quốc gia khác trên thế giới, vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải tại Nhật Bản có nồng độ thấp hơn từ 10 đến 100 lần (Bảng 1), cụ thể nồng độ  $1.1-3.2 \times 10^5$  copies/L tại Tây Ban Nha [8],  $10^4 - 10^6$  copies/L tại Pháp [9] và  $2.6 \times 10^3 - 2.2 \times 10^6$  tại Hà Lan [4]. Sự khác biệt này có thể do số ca mắc bệnh COVID-19 ở các quốc gia này cao hơn ở Nhật Bản. Hơn nữa, quy trình phân tích vi rút SARS-CoV-2 cũng khác nhau giữa các nghiên cứu.

**Bảng 1.** Vi rút SARS-CoV-2 được phát hiện trong nước thải tại Nhật Bản và một số quốc gia trên thế giới

Quốc gia	SARS-CoV-2 RNA (copies/L)
Nhật Bản [5]	$2.4 \times 10^3$
Nhật Bản [6]	$1.2-3.5 \times 10^4$
Nhật Bản [7]	$< 6.0 \times 10^3 - 4.1 \times 10^4$
Tây Ban Nha [8]	$1.1-3.2 \times 10^5$
Pháp [9]	$10^4 - 10^6$
Hà Lan [4]	$2.6 \times 10^3 - 2.2 \times 10^6$
Mỹ [10]	$3.1 \times 10^3$

## 3. Phương pháp cô đọng vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải

Quy trình phân tích vi rút trong nước thông thường gồm 2 bước chính 1) cô đọng mẫu nước (từ thể tích lớn về thể tích nhỏ) để tăng số lượng vi rút trong mẫu nước trước khi 2) xác định nồng độ vi rút bằng các phương pháp phân tích vi rút (phổ biến nhất hiện nay là phương pháp RT-qPCR). Do đó, cô đọng vi rút là bước quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến việc xác định số lượng vi rút ở bước phía sau. Hiện nay, các phương pháp cô đọng vi rút được phát triển và áp dụng đối với các vi rút gây bệnh qua đường nước (các vi rút đường ruột như norovirus, rotavirus). Các vi rút này (không có cấu trúc bao ngoài) có cấu tạo hoàn toàn khác so với vi rút SARS-CoV-2 (có cấu trúc bao ngoài). Do đó, cần đánh giá và tìm ra phương pháp tối ưu để cô đọng hiệu quả vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải.

Gần đây, nhóm nghiên cứu tại Nhật Bản đánh giá 2 phương pháp cô đọng vi rút phổ biến bao gồm kết tủa PEG và màng siêu lọc UF để áp dụng cho vi rút SARS-CoV-2 [6]. Đối với phương pháp PEG, quy trình được thực hiện như sau: 40mL nước thải hoà trộn với 4 g hoá chất kết tủa PEG và 2.35 g NaCl được để qua đêm trong máy lắc (khoảng 16 h). sau đó, dung dịch này được quay ly tâm ở tốc độ 10.000 g trong 30 phút. Các kết tủa được thu hồi trong 1 mL sử dụng dung dịch đệm (PB buffer). Đối với phương pháp UF, 50mL nước thải trong màng siêu lọc UF (Centricon Plus-70, khối lượng phân tử cắt 30 kDa) được quay ly tâm ở tốc độ 3.500 g trong 20 phút để cô đọng về khoảng 0.7 mL. Vi rút được thu hồi trong phần dung dịch cô đọng này (0.7mL) do có khối lượng phân tử lớn hơn so với khối lượng phân tử cắt của màng siêu lọc.

Do các yêu cầu khắt khe về đảm bảo an toàn khi làm thí nghiệm trực tiếp với vi rút SARS-CoV-2, nghiên cứu này đã sử dụng khuẩn thể *Pseudomonas*  $\phi 6$  ( $\phi 6$ ) như là vi rút đại diện cho vi rút SARS-CoV-2 do vi rút này có cấu tạo và hình thái học tương tự như SARS-CoV-2. Khi thử nghiệm với các mẫu nước thải (trước và sau khi xử lý), nghiên cứu này chỉ ra rằng phương pháp PEG (30-50%) có khả năng thu hồi vi rút  $\phi 6$  cao hơn phương pháp sử dụng màng siêu lọc UF (6-36%). Hơn nữa, phương pháp PEG cũng thành công trong việc thu hồi vi rút SARS-CoV-2 trong các mẫu nước thải thực tế thu tập tại Tokyo. Do đó, phương pháp PEG được đánh giá là phù hợp để cô đọng vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải, đặc biệt hữu ích khi quan trắc số lượng lớn mẫu nước thải do có chi phí rẻ hơn nhiều so với sử dụng màng UF.

**Bảng 2.** So sánh các phương pháp cô đọng sử dụng cho vi rút SARS-CoV-2

Phương pháp	Tỷ lệ thu hồi (%)
Kết tủa PEG	30-50%
Màng siêu lọc UF	6-36%

Chú ý: Tỷ lệ thu hồi được đánh giá với thực khuẩn thể *Pseudomonas*  $\phi 6$

#### 4. Nghiên cứu về giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua quan trắc vi rút SARS-CoV-2 trong nước thải tại Nhật Bản

Giám sát dịch bệnh thông qua quan trắc nước thải đã được thực hiện trong nhiều thập kỷ trước đây để đánh giá hiệu quả của chương trình tiêm chủng vắc xin đối với bệnh bại liệt gây ra bởi vi rút polio. Phương pháp này cũng được sử dụng để đánh giá tình hình lây nhiễm của các vi rút đường ruột (norovirus, enterovirus) cũng như xác định chủng vi rút phổ biến đang lưu hành trong cộng đồng. Cụ thể, nhóm nghiên cứu của Nhật Bản khi quan trắc norovirus trong nước thải trong vòng 3 năm từ 2013 đến 2016 ghi nhận được 15 kiểu gen (genotype) khác nhau của norovirus. Bên cạnh đó, nghiên cứu này cũng phát hiện ra rằng kiểu gen GII.4 là phổ biến nhất trong nước thải, cho thấy kiểu gen này

lưu hành phổ biến trong cộng đồng người dân tại khu vực quan trắc.

Khi dịch bệnh COVID-19 bùng phát tại Nhật Bản vào đầu năm 2020, cũng có một số nghiên cứu được thực hiện để đánh giá tiềm năng của việc giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua quan trắc nước thải. Nghiên cứu đầu tiên được thực hiện bởi Haramoto và cộng sự [5], quan trắc nước thải tại tỉnh Yamanashi từ 17/3/2020 đến 7/5/2020. Trước ngày 17/3, chỉ có tổng 2 ca COVID-19 được ghi nhận tại tỉnh này. Vi rút SARS-CoV-2 được phát hiện trong nước thải vào ngày 14/4, tại thời điểm này tỉnh Yamanashi ghi nhận tổng số 36 ca COVID-19 (tương đương 4.4 ca COVID-19 trên 100.000 dân). Sau ngày 14/4, số ca COVID-19 được ghi nhận giảm dần từ 4.4 ca xuống còn khoảng 1 ca/100.000 dân, trong khoảng thời gian này, nước thải đều âm tính với SARS-CoV-2 RNA. Nghiên cứu này cho thấy, giám sát COVID-19 thông qua nước thải có độ nhạy tương đối cao, cụ thể SARS-CoV-2 RNA được phát hiện trong nước thải khi chỉ có 4.4 ca COVID-19 trên 100.000 dân.

Một nghiên cứu khác thực hiện tại 2 tỉnh Ishikawa và Toyama (từ 19/3/2020 tới 29/5/2020) cũng cho thấy kết quả tương đồng. Cụ thể, SARS-CoV-2 RNA thường xuyên được phát hiện trong nước thải khi số ca bệnh COVID-19 trong cộng đồng tại 2 tỉnh này cao hơn 10 ca COVID-19 trên 100.000 người. Hơn nữa, SARS-CoV-2 RNA không được phát hiện trong nước thải khi không có ca bệnh COVID-19 nào được ghi nhận trong cộng đồng (trong suốt tháng 3). Đặc biệt hơn, một số thời điểm phát hiện SARS-CoV-2 RNA trong nước thải khi trong cộng đồng chỉ ghi nhận <1.0 số ca COVID-19 trên 100.000 người. Do vậy, nghiên cứu này chỉ ra rằng giải pháp giám sát nước thải có thể đưa ra những cảnh báo sớm về lây nhiễm COVID-19 trong cộng đồng.

Tuy nhiên, có sự khác biệt khi so sánh với các quốc gia khác trong các nghiên cứu về giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua nước thải (**Bảng 3**). Cụ thể, tại Úc, SARS-CoV-2 RNA không được phát hiện trong nước thải cho đến khi số ca COVID-19 cao trên 100 ca/100.00 dân. Bên cạnh đó, trong các nghiên cứu tại Tây Ban Nha và Hà Lan, SARS-CoV-2 RNA được phát hiện trong nước thải trước cả khi có ca nhiễm COVID-19 đầu tiên được ghi nhận bởi các cơ sở y tế. Sự khác này có thể do năng lực xét nghiệm COVID-19 cũng như hệ thống thu gom nước thải khác nhau giữa các quốc gia. Hơn nữa, quy trình phân tích vi rút (cô đọng mẫu) khác nhau giữa các nghiên cứu.

Từ các nghiên cứu trên có thể thấy giải pháp giám sát nước thải có tiềm năng rất lớn trong việc dự báo tình hình dịch bệnh COVID-19 cũng như ra cảnh báo sớm về sự lây lan của dịch bệnh này trong cộng đồng. Tại những khu vực có năng lực xét nghiệm thấp hoặc khả năng tiếp cận các cơ sở y tế thấp, giám sát nước thải

có thể là giải pháp hiệu quả do phản ánh được toàn cảnh bức tranh dịch bệnh COVID-19 (bao gồm cả những người không thăm khám tại các cơ sở y tế).

Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu hiện nay về giám sát COVID-19 qua nước thải được thực hiện ở các quốc gia phát triển với hệ thống thu gom hoàn chỉnh. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu được thực hiện để đánh giá tính khả thi của phương pháp này ở các quốc gia chưa phát triển, đặc biệt ở những nơi chưa có hệ thống thu gom nước thải hoàn chỉnh. Hơn nữa, các nghiên cứu hiện tại đều quan trắc nước thải tại các trạm xử lý nước thải tập trung phục vụ cho một khu vực dân cư lớn. Do đó, cần có thêm các nghiên cứu ở những quy mô nhỏ hơn như trường học, ký túc xá, khu chung cư hoặc ở những khu vực có khả năng lây nhiễm cao như bệnh viện, khu cách ly, sân bay. Qua đó, có thể giúp tìm ra các điều kiện hoặc quy mô phù hợp cho việc áp dụng hiệu quả giải pháp giám sát COVID-19 qua nước thải.

**Bảng 3.** So sánh kết quả giữa các nghiên cứu về giám sát dịch bệnh COVID-19 thông qua quan trắc nước thải

Quốc gia	Tỉnh/ thành phố	Độ nhạy của giám sát nước thải
Nhật Bản [5]	Yamanashi	4.4 ca COVID19/ 100.000 người
Nhật Bản [7]	Ishikawa và Toyama	<1 ca COVID19/ 100.000 người
Úc [11]	Quenland	100 ca COVID19/ 100.000 người
Tây Ban Nha [8]	Murcia	Trước khi có ca COVID19 được ghi nhận trong cộng đồng
Hà Lan [4]	Amsterdam, Den Haag, Utrecht, Apeldoorn, Amersfoort, và Schiphol	Trước khi có ca COVID19 được ghi nhận trong cộng đồng

## 5. Một số phòng thí nghiệm (PTN) tiêu biểu tại Nhật Bản nghiên cứu về vi rút gây bệnh trong hệ thống nước đô thị

### (1) PTN Kỹ thuật môi trường về sức khỏe cộng đồng, Đại học Tokyo

- Lĩnh vực nghiên cứu chính: An toàn vi sinh của hệ thống nước đô thị, đặc tính của vi khuẩn và vi rút gây bệnh trong hệ thống nước đô thị.
- Website: <http://www.envph.t.u-tokyo.ac.jp/research>

### (2) PTN Kỹ thuật chất lượng nước môi trường, Đại học Tohoku

- Lĩnh vực nghiên cứu chính: vi rút và vi khuẩn

gây bệnh trong môi trường nước, kháng kháng sinh trong môi trường nước và tảo nở hoa.

- Website: <https://waterqualitytohoku.com/en/>

### (3) PTN Kỹ thuật kiểm soát chất lượng, Đại học Hokkaido

- Lĩnh vực nghiên cứu chính: vi sinh vật nước liên quan đến sức khỏe cộng đồng, kỹ thuật xử lý nước
- Website: [https://www.eng.hokudai.ac.jp/labo/water/English/E\\_index.html](https://www.eng.hokudai.ac.jp/labo/water/English/E_index.html)

### (4) Khoa học môi trường lưu vực sông, Đại học Yamanashi

- Lĩnh vực nghiên cứu chính: Đặc tính của vi sinh vật gây bệnh trong môi trường nước
- Website: [https://www.eng.yamanashi.ac.jp/en/master/civ\\_environmen\\_eng\\_m/](https://www.eng.yamanashi.ac.jp/en/master/civ_environmen_eng_m/)

## Tài liệu tham khảo

- [1] WHO, “COVID-19 Weekly Epidemiological Update,” 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---13-april-2021> (accessed Apr. 17, 2021).
- [2] M. Kitajima *et al.*, “SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs,” *Sci. Total Environ.*, vol. 739, p. 139076, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139076.
- [3] D. Buitrago-Garcia *et al.*, “Occurrence and transmission potential of asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections: A living systematic review and meta-analysis,” *PLoS Med.*, vol. 17, no. 9, pp. 1–25, 2020, doi: 10.1371/journal.pmed.1003346.
- [4] G. Medema, L. Heijnen, G. Elsinga, R. Italiaander, and A. Brouwer, “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,” *Environmental Sci. Technol.*, vol. 7, pp. 511–516, 2020, doi: 10.1021/acs.estlett.0c00357.
- [5] E. Haramoto, B. Malla, O. Thakali, and M. Kitajima, “First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan,” *Sci. Total Environ.*, vol. 737, p. 140405, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140405.
- [6] S. Torii, H. Furumai, and H. Katayama, “Applicability of polyethylene glycol precipitation followed by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction for the detection of SARS-CoV-2 RNA from municipal wastewater,” *Sci. Total Environ.*, vol. 756, p. 143067, 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143067.

- 10.1016/j.scitotenv.2020.143067.
- [7] A. Hata, H. Hara-Yamamura, Y. Meuchi, S. Imai, and R. Honda, "Detection of SARS-CoV-2 in wastewater in Japan during a COVID-19 outbreak," *Sci. Total Environ.*, vol. 758, p. 143578, 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143578.
- [8] W. Randazzo, P. Truchado, E. Cuevas-Ferrando, P. Simón, A. Allende, and G. Sánchez, "SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area," *Water Res.*, vol. 181, p. 115942, 2020, doi: 10.1016/j.watres.2020.115942.
- [9] W. FQ *et al.*, "SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases," *medRxiv*, 2020.
- [10] S. P. Sherchan *et al.*, "First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA," *Sci. Total Environ.*, vol. 743, p. 140621, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140621.
- [11] W. Ahmed *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.*, vol. 728, p. 138764, 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.