

**Descripción de la Cuantificación del Covid 19 en Aguas Residuales como una
Herramienta de Control Epidemiológica para el Seguimiento y Monitoreo del Virus:
Una Revisión**

**Angela Yiceth Torres Corredor
Lineth Zulay Figueredo Acero**

**Universidad de Boyacá
Facultad de Ciencias e Ingeniería
Programa de Ingeniería Sanitaria
Tunja
2021**

**Descripción de la Cuantificación del Covid 19 en Aguas Residuales como una
Herramienta de Control Epidemiológica para el Seguimiento y Monitoreo del Virus:
Una Revisión**

**Angela Yiceth Torres Corredor
Lineth Zulay Figueredo Acero**

**Trabajo de grado para optar al Título de
Ingenieras Sanitarias**

**Directora:
Yadi Johaira Ramos Parra
MsC. en Salud Pública**

**Universidad de Boyacá
Facultad de Ciencias e Ingeniería
Programa de Ingeniería Sanitaria
Tunja
2021**

Nota de aceptación

Las estudiantes Ángela Yiceth Torres Corredor y Lineth Zulay Figueredo Acero, del programa de Ingeniería Sanitaria, realizaron su trabajo de grado titulado: " Descripción de la Cuantificación del Covid 19 en Aguas Residuales como una Herramienta de Control Epidemiológica para el Seguimiento y Monitoreo del Virus: Una Revisión”, obteniendo una nota final de aprobación de

Firma presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Tunja 27 de octubre de 2021

“Únicamente el graduando es responsable de las ideas expuestas en el presente trabajo”.
(Universidad de Boyacá. Acuerdo 958 del 30 de marzo de 2017, Artículo décimo primero).

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios. A mi padre Armando Parra quien me apoyó, me motivó, me brindó su amor y paciencia durante mis estudios. Por él y para él. A mis hermanos Elizabeth, Sebastián y Julián por estar presentes.

A mi abuela Candelaria Camargo quien es incondicional en mi vida. A Santiago López por ser mi apoyo incondicional y mi guía,

¡Sin su apoyo nada de esto sería posible!

Atte. Angela Yiceth Torres Corredor

Este trabajo de grado es dedicado primeramente a Dios, por ser el rector de mi vida, darme sabiduría e iluminar siempre mi camino.

A la señora Flor, por darme la calma que necesitaba.

A mis padres, por confiar en mí y apoyarme de todas las maneras posibles que unos padres pueden apoyar a una hija; Oswaldo Figueredo y Luz Neira Acero.

Por último, a quien estuvo conmigo en los momentos más difíciles y siempre buscó la manera de ayudarme a no desfallecer en todos los sentidos de la vida.

Por tener paciencia inigualable, por una lealtad inquebrantable, por estar para mí siempre.

Por todo y para todo.

¡Gracias, Laura, por ser mi amiga incondicional!

¡Sin su apoyo, nada de esto sería posible!

Atte. Lineth Zulay Figueredo Acero

Contenido

	Pág.
Introducción	10
Metodología	12
Resultados	12
Métodos y procesos utilizados actualmente para el monitoreo y cuantificación del SARS-CoV-2 en el tratamiento de agua residual	21
VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE SARS-COV-2 BASADA EN AGUAS RESIDUALES	24
Remoción del SARS-CoV-2 en sistemas de tratamiento de aguas residuales	29
Conclusiones	31
Referencias	32
Anexos.....	44

Lista de Tablas

	Pág.
TABLA 1	13

Lista de Figuras

	Pág.
<i>FIGURA 1.</i> FLUJOGRAMA DE SELECCIÓN DE ARTÍCULOS, ELABORACIÓN PROPIA. -----	13

Glosario

Epidemiología: parte de la medicina que estudia el desarrollo epidémico y la incidencia de las enfermedades infecciosas en la población.

Covid-19: los coronavirus (CoV) son virus que surgen periódicamente en diferentes áreas del mundo y que causan Infección Respiratoria Aguda (IRA), es decir gripa, que pueden llegar a ser leve, moderada o grave.

SARS-CoV-2: virus que causa una enfermedad respiratoria llamada enfermedad por coronavirus de 2019 (COVID-19). El SARS-CoV-2 es un virus de la gran familia de los coronavirus, un tipo de virus que infecta a seres humanos y algunos animales.

Resumen

Figueredo Acero, Lineth Zulay

Descripción de la cuantificación del Covid 19 en aguas residuales como una herramienta de control epidemiológica para el seguimiento y monitoreo del virus: una revisión / Lineth Zulay Figueredo Acero, Angela Yiceth Torres Corredor. - - Tunja : Universidad de Boyacá, Facultad de Ciencias e Ingeniería, 2020.

91 h.: il. + 1 CD ROM. - - (Trabajos de Grado UB, Ingeniería Sanitaria ; n°)

Trabajo de Grado (Ingeniera Sanitaria). - - Universidad de Boyacá 2021.

En este artículo se presenta un trabajo de desarrollo dinámico donde se dan a conocer los resultados obtenidos mediante la investigación desarrollada frente a la actual pandemia del Covid 19, tratando principalmente la relación del SARS-CoV-2 en el agua residual. Donde se determinarán los métodos y procesos que son utilizados actualmente para el monitoreo y eliminación del Covid -19 en el tratamiento de agua residual, se establecerá cómo la epidemiología basada en agua residual puede ayudar al control y monitoreo del virus a nivel internacional en el tratamiento de agua residual y por último se describirán las experiencias relacionadas con la remoción del Covid-19 en sistemas de tratamiento de aguas residuales internacionalmente.

Con base en la información se analizará la relevancia de la cuantificación y los métodos de tratamiento aplicados en aguas residuales para el control de SARS CoV-2 y su utilidad como herramientas de control epidemiológico de la enfermedad COVID-19.

Para este estudio se realizará una búsqueda en base de datos como lo son Elsevier, Scielo, Science Direct y MedRxiv, buscando literatura previa sobre el SARS-CoV-2, así como los hallazgos actuales relacionados con el tratamiento, vigilancia y monitoreo en las aguas residuales. De tal modo que se incluyeron estudios epidemiológicos, experimentales y/o ambientales, que analizaron la presencia y/o infectividad de SARS-CoV-2 en muestras de agua residual, publicados en inglés, desde marzo de 2020 hasta junio de 2021

De manera general se concluye que la epidemiología basada en aguas residuales, es una herramienta que permite monitorear el comportamiento del virus ayudando a prevenir el aumento de contagios, dado que posibilita un diagnóstico referente a la población que se encuentra compartiendo una red de alcantarillado. Este estudio permitió exponer que las aguas residuales de un afluente que se encuentran contaminadas con SARS-CoV-2 después de ser tratadas en un proceso de depuración con tratamientos primarios, secundarios y terciarios presentan un efluente libre de este virus,

Introducción

El Covid-19 es una enfermedad ocasionada por una nueva cepa de coronavirus, “CO” hace referencia a “corona”, “VI” a “virus” y “D” a disease (“enfermedad” en inglés) (Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia, 2020). Los coronavirus son virus con envoltura, ARN monocatenario y cargados positivamente (a pH neutro). El brote de enfermedad por coronavirus (Covid-19) ha sido declarado emergencia de salud pública de importancia internacional debido a que el virus se ha propagado a numerosos países y territorios. El 11 de febrero de 2020, el Grupo de Estudio de Coronavirus (CSG) del Comité Internacional de Taxonomía de los Virus (ICTV) propuso llamar al virus como SARS-CoV-2 y la Organización Mundial de la Salud (OMS) nombró la enfermedad oficialmente como enfermedad de coronavirus 2019 (Covid-19) (Guo et al., 2020); declarando la enfermedad como pandemia el 11 de marzo de 2020.

Los síntomas de la infección por Covid-19 aparecen después de un período de incubación de aproximadamente 5,2 días (intervalo de confianza [IC] del 95%, 4,1 a 7), la muerte de una persona infectada puede ocurrir en un lapso de 6 a 41 días con un promedio de 14 días (Li et al., 2020). El virus SARS-CoV-2, permanece hasta 18 días en el tracto respiratorio, 16 días en suero y hasta 22 días en las heces (Godin et al., 2021). De acuerdo con Kopperi et al., (2021) puede existir una replicación del SARS-CoV-2 en el tracto gastrointestinal y la propagación prolongada de material viral a través de las heces durante y después de las fases infecciosas del virus, por lo que se infiere una posible propagación mediante el agua residual (Phan et al., 2020), por lo que Nemudryi et al., (2020) expone que los pacientes infectados excretan el virus en las heces y la orina en los sistemas de recolección de aguas residuales de 5 a 8 días antes de la aparición de los síntomas.

Diversos estudios han evidenciado la importancia del monitoreo y la vigilancia de las aguas residuales en el seguimiento de enfermedades virales a través de la detección de material genético, tales como, el virus de hepatitis E (Cuevas-Ferrando, Randazzo, Pérez-Cataluña, & Sánchez, 2020), el virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) y poliovirus, entre otros. Por lo anterior, la aparición de estos virus en el ambiente acuático requiere especial atención en el

tratamiento que reciben las aguas residuales, debido a que es posible la contaminación de otros cuerpos de agua (superficiales, marinos, subterráneos) siendo una potencial vía de transmisión fecal-oral, además, en algunos escenarios las aguas residuales pueden propagar el SARS-CoV-2 a través de gotitas de aire y fómites (Gormley et al., 2020) y (Randazzo, Cuevas-Ferrando, et al., 2020).

Actualmente, realizar el monitoreo y vigilancia de las aguas residuales es un método estratégico para rastrear marcadores biológicos y químicos de la actividad humana (Panchal et al., 2021). Es así que, la cuantificación, estudio y monitoreo del SARS-CoV-2 en las aguas residuales permitiría evaluar la prevalencia de la infección en la población, según la epidemiología basada en aguas residuales (Wastewater Based Epidemiology: WBE). La WBE resulta ser eficiente en la alerta temprana en la transmisión de brotes de enfermedades infecciosas, y dentro de sus objetivos se incluyen: rastrear el origen del virus; vigilar si su concentración aumenta o disminuye; identificar la ubicación de los posibles portadores; y proporcionar una alerta temprana y eficaz (Mao et al., 2020). Esto en suma, permite la toma de decisiones informada por parte de las autoridades sanitarias en materia de prevención y mitigación de riesgos en la salud pública de una población objeto, por lo que el monitoreo de las aguas residuales no tratadas en el alcantarillado y en las PTAR (Plantas de Tratamiento de Agua Residual) municipales, puede proporcionar una alerta temprana de los brotes de SARS-CoV-2 (Thompson et al., 2020).

El objetivo de la presente revisión es describir la relevancia de la cuantificación y los métodos de tratamiento que pueden ser aplicados en las aguas residuales para el control de SARS CoV-2 y su utilidad como herramientas de control epidemiológico de la enfermedad Covid-19, resolviendo las siguientes preguntas: ¿Qué información existe referente al monitoreo del SARS-CoV-2 en aguas residuales?, ¿Qué consideraciones técnicas deben tener las PTAR para la eliminación del SARS-CoV-2?, y, finalmente ¿El conocimiento del estado de las aguas residuales permite generar estrategias de salud pública para el monitoreo y control del SARS-CoV-2?.

Metodología

Se consultaron bases de datos tales como Elsevier, Scielo, Science Direct y MedRxiv, buscando literatura previa sobre el SARS-CoV-2, así como los hallazgos actuales relacionados con el tratamiento, vigilancia y monitoreo en las aguas residuales. De tal modo que se incluyeron estudios epidemiológicos, experimentales y/o ambientales, que analizaron la presencia y/o infectividad de SARS-CoV-2 en muestras de agua residual, publicados en inglés, desde marzo de 2020 hasta junio de 2021. Se utilizaron palabras claves para la búsqueda de los artículos tales como “SARS-CoV-2”, “SARS-CoV-2 y heces”, “SARS-CoV-2 y PTAR”, “SARS-CoV-2 AND wastewater”, “SARS-CoV-2 en alcantarillados”, “SARS-CoV-2 en lodos”, “coronavirus”, “SARS-CoV-2 y tratamientos”, “eliminación de SARS-CoV-2”, “coronavirus y aguas residuales”, “coronavirus y alcantarillado”. Las investigadoras definieron el formato estandarizado de la información a extraer de cada estudio.

Resultados

De la investigación realizada en las bases de datos se encontraron 558 publicaciones, revisadas por título y resumen, de las cuales 76 artículos fueron considerados para ser revisados en extenso, se descartaron 194 por título, 18 excluidos por duplicados, 272 excluidos por resúmenes, y 8 artículos entre revisiones narrativas y estudios antes del 2019 puesto que no era de relevancia para la revisión. Al finalizar la búsqueda y selección, indagando las palabras clave en los campos “Título del artículo, Resumen, Palabras clave”, 50 documentos fueron sometidos al proceso de extracción de la información (figura 1), de las cuales 21 artículos pertenecen a estudios de SARS-CoV-2 (estudios de monitoreo ambiental en su mayoría PTAR) en los que se evidencia la vigilancia epidemiológica de SARS-CoV-2 basada en aguas residuales mostrados en la Tabla 1, 6 estudios pertenecen a la presencia de la carga viral en las heces de pacientes infectados con Covid-19, 2 artículos son revisiones rápidas de la presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales, y el restante (21 artículos) pertenecen al análisis de aguas residuales para vigilancia epidemiológica Covid-19.

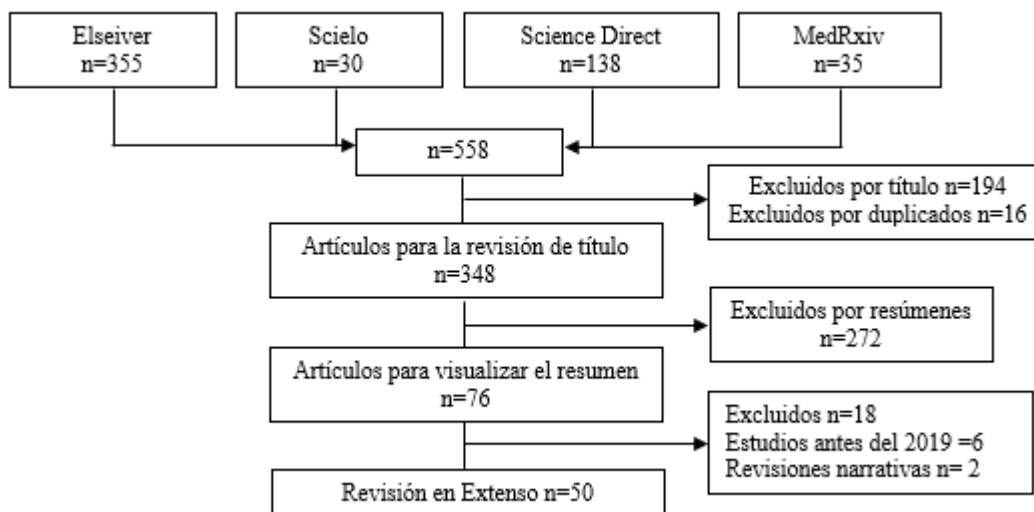


Figura 1. Flujograma de selección de artículos, elaboración propia.

Tabla 1.

Estudios relacionados con la detección de Covid-19 y su posterior cuantificación y/o eliminación del ARN viral de SARS-CoV-2 en aguas residuales

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
PTAR* Ourense España 2020	Evaluación de la presencia de ARN viral del SARS-CoV-2. Técnicas de centrifugación y RT-qPCR	15 muestras de agua y 35 muestras de lodo	ARN de SARS-CoV-2 se detectó en agua con tratamiento primario (entre 7,5 y 15 copias/mL) pero no en agua con tratamiento secundario. El ARN de SARS-CoV-2 se detectó en el decantador primario (10-40 copias/mL) y sólo se detectó en una ocasión en el lodo biológico (7,5-10 copias/mL), las partículas del virus tienen una mayor afinidad por el lodo. No se detectó material genético SARS-CoV-2 en el efluente de agua.	(Balboa et al., 2020)
China Hospital Cabin de Wuchang 2020	Evaluación de la presencia de ARN viral del SARS-CoV-2. Técnicas de centrifugación y RT-qPCR	Muestras de tanque sépticos	Presencia del genoma del virus de $(0.5-18.7) \times 10^3$ copias/L después de la desinfección con hipoclorito de sodio. Los virus incrustados en las partículas de las heces pueden liberarse en tanques sépticos, comportándose como una fuente secundaria de SARS-CoV-2.	(Zhang, Ling, et al., 2020)
China (3): Hospitales Jinyitan, Huoshenshan, y Wichang Fangcang. 2020	Estudio de monitoreo ambiental, presencia y cuantificación del ARN viral por RT-qPCR	73 muestras: 28 agua residual, 16 aerosoles, 15 suelo, 14 superficie de paredes	Jiyintan: Tanque séptico: 255 copias/L, en efluentes no se detectó. Houshenshan: Agua cruda del tanque de ajuste: 633 copias/L, ocasional en reactor de lecho móvil con biofilm (505 copias/L) y tanque de sedimentación (2 208 copias/L). Sin detección en el agua de efluente después de la desinfección. Wuchang Fangcang: 557 a 18 744 copias/L en tanques sépticos desinfectados sugirió que la concentración de hipoclorito de sodio sea de 800 g/m ³ NaClO y no detectado a concentración de 6 700 mg/L.	(Zhang, Yang, et al., 2020)

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
China Hospital (Universidad Zhejiang) 2020	Estudio de monitoreo biológico ambiental. Presencia e infectividad RT-PCR y cultivo celular	33 muestras de pacientes, 36 muestras de superficies de objetos y 5 muestras de agua residual con probable SARS-CoV-2	El ARN del SARS-CoV-2 se detectó en agua residual no tratada, en el intervalo de Ct* de 29-32, y sólo una muestra débilmente positiva con un Ct de 33 después del primer proceso de desinfección. Todas las muestras fueron negativas al finalizar el proceso de desinfección. El cultivo celular no detectó virus infectivo.	(J. Wang et al., 2020)
PTAR de Old Pirana. India 2020	Primera prueba de vigilancia de aguas residuales para COVID-19 a través de la RT-PCR	Muestras días 8 y 27 de mayo de pacientes con Covid-19, la PTAR recibe efluentes del Hospital Civil	Los genes ORF1ab, N y S del SARS-CoV-2, se encontraron en el influente con una concentración de $5,6 \times 10^{-3}, 5 \times 10^2$ copias del genoma / L. El aumento de la carga genética del SARS-CoV-2 en las aguas residuales entre 8 y las muestras del 27 de mayo coincidieron con el aumento correspondiente en el número de pacientes activos con COVID-19 en la ciudad.	(Kumar et al., 2020)
PTAR de Bozeman, Montana (EUA) 23 marzo al 8 de abril 2020	Estudio de monitoreo ambiental. Presencia y cuantificación de ARN por RT-qPCR PTAR municipal	Muestras compuestas (24 horas) agua residual cruda	Las muestras compuestas recolectadas a fines de marzo y principios de abril de 2020 dieron positivo para SARS-CoV-2 (500 y 1 500 copias/L), aunque las concentraciones de ARN viral disminuyeron constantemente y luego cayeron por debajo del límite de detección. Después de 1 mes de niveles indetectables de SARS-CoV-2, las aguas residuales comenzaron a dar positivo nuevamente a fines de mayo, lo que coincidió con un aumento de casos de COVID-19 en la población.	(Nemudryi et al., 2020b)
6 EDAR* Región de Murcia, España 2 de marzo al 14 de abril de 2020	Monitoreo de la ocurrencia de SARS-CoV-2. Presencia de ARN por RT-qPCR	42 muestras de influente de EDAR. 18 muestras de efluente con tratamiento secundario 12 de efluente con tratamiento terciario	83% (35/42) de las muestras de agua residual cruda de las EDAR resultaron positivas a SARS-CoV-2. El 11% (2/18) de muestras de agua residual con tratamiento secundario y 0% (0/12) de agua residual con tratamiento terciario fueron positivas. 12% de muestras de agua residual cruda presentaron Cta. entre 37, 40 y 29% de muestras de influente un Ct de 34-37.	(Randazzo et al., 2020)
3 EDAR París, Francia 2020	Estudio de monitoreo ambiental. Presencia y cuantificación del ARN por RT-qPCR	Alrededor de 30 muestras de agua residual cruda	Todas las muestras de agua residual fueron positivas a SARS-CoV-2. El 5 de marzo se cuantificó 5.10^4 copias/L, al inicio de la epidemia. El título aumentó en 2-log con un crecimiento exponencial hasta 3.10^6 copias/L el 9 de abril. Posteriormente se observó una disminución de 1-log en promedio.	(S. Wurtzer et al., 2020)
Queensland, Australia PTAR y estación de bombeo del Sureste entre 23 de febrero y 7 de abril de 2020	Primer estudio de SARS-CoV-2 en las aguas residuales. Presencia y cuantificación del ARN por RT-qPCR	1 muestra de una estación de bombeo y 8 muestras desde dos PTAR (A y B) del sureste de Queensland	22.2% (2/9) de las muestras colectadas en la PTAR B fueron positivas a ARN de SARS-CoV-2, y ninguna de la PTAR A y la estación de bombeo. Los valores de Ct para las muestras de las PTAR A y B estuvieron entre 37.5-39 equivalentes a 12 y 1.9 copias/100 mil, respectivamente. La prevalencia mediana estimada de Covid-19 fue de 0.096% (0.064,0.142%) en el área de estudio durante los 6 días de monitoreo.	(Ahmed et al., 2020a)
7 EDAR Estambul, Turquía 2020	Estudio de monitoreo ambiental. Presencia y cuantificación del ARN por RT-qPCR	9 muestras de lodos activados primarios y residuales	Todas las muestras de lodos activados fueron positivas, cuyo rango de concentración oscila en $1.7 \times 10^4 - 4,02 \times 10^4$ copias del genoma / L el SARS-CoV-2	(Kocamemi et al., 2020)

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
9 PTAR Renania del Norte-Westfalia, Alemania	El primer estudio que reporta la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales en Alemania usando RT-qPCR.	Muestras de aguas residuales no tratadas en agua afluyente y tratada después de la ozonización	En las aguas residuales sin tratar, se encontraron de 3,0 a 20 equivalentes de genes / ml en las aguas residuales sin tratar. Influyente: fase sólida 25 copias del genoma / ml, fase acuosa 1,8 copias del genoma / ml Efluyente: fase sólida 13 equivalentes de genes / ml fase acuosa 8,8 equivalentes de genes / ml	(Westhaus et al., 2021)
PTAR de Milán y Roma; Italia. Entre febrero y abril de 2020	Estudio de monitoreo ambiental. Presencia del ARN del virus por RT-PCR anidada y qPCR en tiempo real	12 muestras de influentes de aguas residuales de PTAR	Detección de fragmentos de ARN del SARS-CoV-2 en agua residual de Italia. Se diseñó de un nuevo ensayo de PCR anidado específico para SARS-CoV-2, útil para fines de detección. La detección del ARN del SARS-CoV-2 se logró en volúmenes de 250 ml de aguas residuales recolectadas en áreas de alta (Milán) y baja circulación epidémica (Roma), según datos clínicos. En general, 6/12 muestras fueron positivas. Uno de los resultados positivos se obtuvo en una muestra de aguas residuales de Milán recogida unos días después del primer caso italiano notificado de SARS-CoV-2 autóctono.	(La Rosa et al., 2020)
3 PTAR y 2 sitios en ríos Milán, Italia, 14 y 22 de abril de 2020	Estudio de monitoreo ambiental SARS-CoV-2. Presencia del ARN del virus por RT-PCR. Infectividad del virus por medio de cultivo celular	Muestras instantáneas de influente y efluente de 3 PTAR y 2 sitios en ríos tomadas en dos fechas diferentes a la misma hora simultáneamente en todos los sitios	Las muestras de influentes (4/4) de PTAR fueron positivas, y las muestras de efluente de PTAR de tratamiento terciario (2/2) fueron negativas para el ARN del virus. El virus se encontró en ríos, probablemente debido a "sobreflujo combinado de drenaje". La infectividad del virus no siempre fue significativa, indicando la eficacia de los tratamientos de aguas residuales o la degradación natural de la vitalidad viral, implica la ausencia de un riesgo significativo de infección por las aguas residuales.	(Rimoldi et al., 2020)
PTAR de New Haven, Connecticut EUA. 19 de marzo a 1 de mayo, 2020	Estudio de monitoreo ambiental. Presencia y cuantificación del ARN viral por RT-qPCR	Muestras diarias de lodo primario de la instalación de tratamiento de aguas residuales	El ARN viral de SARS-CoV-2 fue detectable en todas las muestras entre 1.7×10^3 a 4.6×10^5 copias/mL. La concentración más baja correspondió a un Ct de 38,75. En general, 96.5% de todos los valores de Ct fueron inferiores a 38 y los valores entre 38 y 40 se informaron como positivos.	(Peccia et al., 2020)
PTAR de Prefectura de Yamanashi, Japón	Estudio de monitoreo ambiental. Presencia y cuantificación de ARN por RT-qPCR	5 muestras de aguas residuales no tratadas procedentes de afluentes y 5 de aguas residuales tratadas secundarias antes de la cloración, 3 muestras de agua de río	El ARN de SARS-CoV-2 fue detectado en el Influyente $4.0 \times 10^4 - 8.2 \times 10^4$ copias del genoma / L, Aguas residuales tratadas secundarias $1.2 \times 10^2 - 2.5 \times 10^3$ copias del genoma / L. El ARN de SARS-CoV-2 no fue detectado en las muestras de influente ni en las muestras de río	(Haramoto et al., 2020)
7 PTAR municipales y aeropuerto. Holanda 2020	Estudio de monitoreo ambiental. Presencia del ARN del virus por RT-PCR	24 muestras compuestas flujo dependiente de 24h	Muestreos 5 al 7 de febrero, y del 4 al 5 y 15 de marzo. Las muestras de febrero fueron negativas. En marzo, 5 de 8 muestras fueron positivas (incluyendo el aeropuerto). A la mitad de marzo, 9 de las 10 muestras fueron positivas (incluyendo el aeropuerto). Al comparar estos resultados con los casos confirmados ajustados por el tamaño de la población en las mismas fechas, indican que el virus se puede detectar en agua residual algunos días antes de que se empiece a reportar la confirmación de casos (ciudad Amersfoort) o cuando la prevalencia es baja.	(Medema et al., 2020)

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
Quito, Ecuador	Estudio de monitoreo ambiental Presencia del ARN del virus por RT-PCR	Muestreo de las descargas de aguas residuales acumuladas en el centro sur (M1), centro norte (M2) y norte (M3) en los arroyos naturales que atraviesan la ciudad.	Los puntos de muestreo M2 y M3 no cumplen con el requisito nacional para la preservación de la vida acuática para DQO y DBO ₅ . El río presenta concentraciones entre 1,13E + 04 (M1), 2,18E + 04 (M2) y 2,60E + 05 GC / L(M3)	(Guerrero-Latorre et al., 2020)
3 PTAR Valencia, España 12 de febrero al 14 de abril de 2020	Estudio de monitoreo ambiental Presencia del ARN del virus por RT-PCR	15 muestras de agua residual cruda y 9 muestras en agua residual tratada	El 12 de febrero no se detectó ARN del virus. El 24 de febrero en una de las dos muestras se detectó ARN de SARS-CoV-2, con un Ct 38 y 10 ⁵ copias/L. Entre el 9 de marzo y 14 de abril se detectó SARS-CoV-2 en 12/12 muestras con Ct entre 34 y 38 correspondiente a un rango de copias entre 10 ⁵ y 10 ⁶ copias/L. Durante abril, 9/9 muestras de agua residual tratada fueron negativas.	(Randazzo et al., 2020)
2 EDAR y 3 Sistemas de alcantarillado Río de Janeiro Brasil	Monitoreo a largo plazo del ARN del SARS-COV-2 en las aguas residuales en Brasil: un enfoque más receptivo y económico	220 muestras de aguas residuales sin tratar durante 44 semanas en cinco sitios de muestreo en la Región ABC	Se detectaron títulos de ARN del SARS-CoV-2 durante todo el período, en concentraciones entre 2,7 y 7,7 log, con picos en las últimas semanas de seguimiento. Se observó una correlación positiva entre la carga viral en las aguas residuales y los datos epidemiológicos / clínicos. La prevalencia de COVID-19 para cada sitio de muestreo se estimó mediante una simulación de Monte-Carlo utilizando la carga viral de las aguas residuales. La prevalencia media prevista osciló entre 0,05 y 0,38%, un poco más alta que la informada (0,016 ± 0,005%) en la Región ABC para el mismo período.	(Claro et al., 2021)
Buenos Aires Argentina	Detección de material genético de SARS-CoV-2 en aguas residuales	Se concentró su muestreo en barrios populares del conurbano mientras que ADA en plantas de la empresa ABSA (Aguas Bonaerenses S.A.) 24h	La detección de SARS-CoV-2 en estas muestras resultó útil para la vigilancia epidemiológica, ya que unos pocos mililitros de aguas residuales permiten detectar la presencia y cuantificar el genoma del virus en una población de miles de personas. Sin embargo, la relación entre la cantidad de material genético viral en un efluente y el número de personas infectadas en la población está marcada por muchas variables de la biología de la infección por este virus, sobre las que aún falta aumentar el conocimiento.	(Solonet, 2020)
Universidad de Barcelona, España	Métodos de concentración para la cuantificación de coronavirus.	Nuevos datos de una tecnología disponible que proporciona un protocolo de ultrafiltración rápida para el SARS-CoV-2.	Un mayor porcentaje de virus envueltos se adsorben en la fracción sólida de las aguas residuales, se cree que estos sólidos en suspensión protegen a los virus de la inactivación. Ninguno de los estudios publicados incluyó el primer paso separado de los sólidos en el análisis, pero la mayoría de ellos involucró un paso inicial para eliminar los sólidos de las aguas residuales y luego se centró en recuperar los virus de la fase líquida.	(Rusiñol et al., 2020)
Universidad Nacional y Kapodistrian de Atenas, Grecia	Detección de SARS-CoV-2 utilizando diversas técnicas analíticas, como RT-qPCR, ddPCR, PCR anidada, LAMP y ensayos CRISPR.	Discusión crítica de todos los pasos de los protocolos analíticos. Propuesta de mejora de los métodos del SARS-CoV-2 en la epidemiología basada en aguas residuales.	Las muestras compuestas de 24 h son recomendables, almacenar las muestras a temperatura del frigorífico (4 ° C) y realizar el análisis lo antes posible. No se debe omitir la concentración para enriquecer las cargas virales en las aguas residuales y lograr una mayor sensibilidad. Los controles externos son necesarios para evaluar la recuperación (veracidad) y corregir la variación muestra a muestra. RT-qPCR es el método instrumental más utilizado para la detección de SARS-CoV-2, debido a su alta sensibilidad, alto rendimiento, disponibilidad de laboratorio y rentabilidad.	(Alygizakis et al., 2021)

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
Hospital Zhongnan de la Universidad de Wuhan, Wuhan, China	Investigar la diseminación del SARS-CoV-2 en las excretas de pacientes con COVID-19	Se recolectaron muestras de frotis faríngeo, heces y orina y se analizaron para detectar ARN del SARS-CoV-2 mediante RT-qPCR	Dos tercios de los pacientes con COVID-19 dieron positivo al ARN del SARS-CoV-2 en muestras de heces. Más del 60% de los pacientes dieron positivos para el ARN viral en las heces después de que los hisopos faríngeos se volvieran negativos. La ruta fecal-oral puede servir como una ruta de transmisión alternativa para el SARS-CoV-2.	(Wu et al. 2020)
Universidad de El Salvador, El Salvador	Detección de SARS-CoV-2 mediante ensayos RT-PCR	Presentan técnicas y procedimientos empleados por diferentes protocolos para la detección de SARS-CoV-2 mediante ensayos RT-PCR	La selección de la muestra y el método de extracción de sus ácidos nucleicos son factores importantes que influirán sobre el éxito de ensayos moleculares de RT-PCR para la detección de virus. Los 4 ensayos para la confirmación de COVID-19 muestran niveles de especificidad de altos a medios para distinguir entre SARS-CoV-2 de otros virus causantes de afecciones respiratorias en diferentes muestras.	(Cuadra et al., 2021)
Hong Kong	Revisión sistemática y metanálisis de pacientes con COVID-19	Se analizaron los datos agrupados sobre la prevalencia de los síntomas gastro-intestinales. N=59 pacientes (durante 27 días)	El 17,6% de los pacientes con COVID-19 tenían síntomas gastrointestinales. Se detectó ARN del virus en muestras de heces de 48,1%, concluyendo que el ARN viral podría persistir hasta ≥ 33 días contemplando el inicio de la enfermedad incluso después de dar negativo al ARN viral en las muestras respiratorias	(Cheung et al. 2020)
Nueva Zelanda	Evaluar posibilidad de diseminación viral a través de las heces y la posibilidad de transmisión fecal-oral.	Revisión sistemática con metanálisis, en la que se incluyeron estudios en el análisis cualitativo.	934/2149 (43%) pacientes dieron positivo al SARS-CoV-2 en muestras de heces, con resultados positivos hasta 70 días después de la aparición de los síntomas. Las muestras fecales positivas de 282/443 pacientes (64%) permanecieron positivas para el SARS-CoV-2 durante una media de 12,5 días, hasta un máximo de 33 días, después de que las muestras respiratorias se volvieran negativas para el SARS-CoV-2. Se encontró SARS-CoV-2 viable en 6/17 (35%) pacientes.	(Van Doorn et al., 2020).
Universidad de Cardiff, Cardiff, Reino Unido	Establecer la incidencia y el momento de las muestras fecales positivas para el SARS-CoV-2 en pacientes con COVID-19.	Se extrajeron datos sobre el tipo de prueba, el número y el momento de las muestras positivas, la incidencia de pruebas fecales positivas y la evidencia de virus fecal viable o transmisión fecal-oral.	La combinación de los resultados del estudio demostró que el 53,9% de los analizados para ARN fecal fueron positivos. La duración de la diseminación viral fecal varió de 1 a 33 días después de un frotis nasofaríngeo negativo y un resultado permaneció positivo 47 días después de la aparición de los síntomas. No hay pruebas suficientes para sugerir que COVID-19 se transmite a través del virus diseminado por las heces.	Gupta et al. 2020)
Estados Unidos	Demostrar la liberación de virus entéricos infecciosos en el efluente final y biosólidos del tratamiento de aguas residuales al medio ambiente.	se analizaron un total de 30 muestras de aguas residuales y 6 biosólidos durante 5 meses en 5 PTARs a gran escala en Michigan utilizando PCR en tiempo real y ensayos de cultivo celular	Los virus infecciosos y no infecciosos se liberan al medio ambiente a través de los efluentes y biosólidos de los servicios públicos de aguas residuales. Hay una reducción logarítmica significativa (2,3–4,5) de virus infecciosos por el proceso de tratamiento de aguas residuales. La reducción de virus infecciosos en el efluente tratado con UV o Cl varía de 0,1 a 1,2 unidades logarítmicas. Un sistema MBR pudo lograr una reducción 2 log más alta de adenovirus humanos en comparación con el tratamiento convencional de aguas residuales. Se observaron eliminaciones similares de enterovirus humanos en MBR y en el tratamiento convencional de aguas residuales.	(Simmons & Xagoraraki, 2011).

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
Australia	Estudio de monitoreo ambiental Presencia del ARN del virus por RT-PCR	de el ARN del SARS-CoV-2 se concentró de las aguas residuales en una cuenca hidrográfica y se enumeraron las copias de ARN viral utilizando la (RT-qPCR),.	Dos detecciones positivas en un período de seis días a partir de la misma planta de tratamiento de aguas residuales (EDAR). Los números estimados de copias de ARN viral observados en las aguas residuales se utilizaron luego para estimar el número de individuos infectados en la cuenca mediante la simulación de Monte Carlo.	(Kitajima et al. 2020)
Irán	Presencia de ARN viral de SARS-CoV-2 en 2 muestras de aire y aguas residuales sin tratar de EDAR	El riesgo que puede surgir de la exposición a aerosoles de aguas residuales con virus se estimó mediante el desarrollo de un método de análisis cuantitativo de riesgo microbiano (QMRA)	Se detectó SARS-CoV-2 en 9 de 24 (37,5%) muestras de aguas residuales con una concentración de aproximadamente 10 ⁴ copias genómicas L ⁻¹ . El ARN viral también se detectó en el 40% (6/15) de las muestras de aire. La falta de datos sobre la supervivencia del SARS-CoV-2 en las aguas residuales y su destino en estado aerosolizado, se necesita más investigación para determinar la importancia de las aguas residuales en la transmisión de COVID-19.	(Gholipour et al. 2021)
Nicosia, Chipre	Identificar los principales protocolos metodológicos validados para el análisis cuantitativo de virus en aguas residuales	WBE es la realización de muestreos del sistema de alcantarillado en vecindarios específicos.	Temas relacionados con el desarrollo de protocolos metodológicos validados para el análisis cuantitativo de virus en aguas residuales. Su inclusión permitirá la optimización metodológica de los análisis de aguas residuales SARS-CoV-2, transformando la infraestructura de aguas residuales en una fuente de información útil para el sector salud. si bien todavía no hay optimización de la metodología, incluido el muestreo, el almacenamiento y la concentración de muestras, la extracción de ARN y la detección / cuantificación.	(Michael-Kordatou et al., 2020)
México	Presencia e infectividad de SARS-CoV-2 y otros coronavirus en aguas residuales	Artículo de revisión en el cual se incluyeron 29 publicaciones.	El ARN de SARS-CoV-2 no infectivo se encontró en agua residual hospitalaria, agua residual cruda, tratada y lodos de plantas de tratamiento. Los niveles cuantitativos de ARN viral en agua residual presentan relación con el número de casos de Covid-19. SARS-CoV-1 y otros coronavirus permanecieron infectivos en agua residual cruda hasta por dos días	(Cruz-Cruz et al., 2020).
Autores de EUA, Emiratos Árabes Unidos, Pakistán	Evaluación actual del tratamiento de SARS-CoV-2 en efluentes y biosólidos de PTARs.	Artículo de revisión en el cual se incluyeron más de 40 publicaciones.	Los resultados de esta evaluación indican que las PTARs existentes están eliminando efectivamente entre 1 y 6 registros de SARS-CoV-2 viable. Sin embargo, los lodos y los biosólidos brindan un paraguas de protección contra el tratamiento y la inactivación del virus. Por lo tanto, los factores del tratamiento de lodos como la alta temperatura, los cambios de pH y los microorganismos depredadores pueden inactivar eficazmente el SARS-CoV-2.	(Saba et al., 2021)
China	Proponer una técnica no invasiva para la predicción temprana y la detección dirigida del SARS-CoV-2 para prevenir brotes actuales y futuros.	El uso de nanotecnología con epidemiología basada en aguas residuales e inteligencia artificial para la detección y remediación de virus de aguas residuales a nivel comunitario.	El uso potencial de nanosensores para la detección temprana y el monitoreo del SARS-CoV-2 debe explorarse en condiciones específicas de cada región en desarrollo. Además, estas plataformas se pueden combinar con técnicas rentables de epidemiología basada en aguas residuales (WBE)	(Adeel et al., 2021)

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
China	El potencial de la epidemiología basada en aguas residuales como vigilancia y alerta temprana de brotes de enfermedades infecciosas	WBE como un sistema de vigilancia y alerta temprana para brotes de enfermedades infecciosas relacionadas con patógenos con potencial pandémico	Si se implementa WBE, podría usarse para rastrear la fuente del virus, identificar las ubicaciones de los posibles portadores del virus y proporcionar una alerta temprana efectiva. Además, si está vinculado a un sistema de respuesta eficaz, WBE puede ser útil para la vigilancia de epidemias.	(Mao et al., 2020).
Singapur	vigilancia de las aguas residuales en busca de enfermedades infecciosas a nivel de alcantarillado y planta de tratamiento	Implicaciones de la detección de virus en aguas residuales no tratadas y cómo dichos datos podrían usarse en epidemiología y toma de decisiones	Importancia de monitorear las aguas residuales no tratadas en el alcantarillado (las tuberías, bombas y tuberías de fuerza que ayudan a recolectar y transportar las aguas residuales domésticas desde su fuente a la planta de tratamiento) y en la toma de las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales (EDAR) para proporcionar una alerta temprana de los brotes de SARS-CoV-2 y el rastreo local de los grupos de infección	(Thompson et al., 2020).
Colombia	Analizar la mortalidad del Covid-19 en países de América Latina	Se analizaron los datos del informe 101 de la organización mundial de la salud, con la intención de identificar los países de América Latina más afectados por esta crisis	En el primer cuatrimestre del 2020 el 80% del reporte de casos de Covid-19 en América latina se presentaron en Brasil, Perú, Ecuador y México. El número de casos más alarmante se registró en Brasil con más de 70000 casos. El número de contagios no supera el 0,1% de la población total de cada país latino a excepción de Ecuador que si lo supera. El número de muertes no supera el 30% de los casos por el coronavirus en América latina.	(Troncoso et al., 2020)
EUA	Estimar el número de reproducción básico de 2019-nCoV en Wuhan, China, utilizando el método del modelo de crecimiento exponencial.	Datos de series de tiempo de casos de 2019-nCoV en China publicados por la Comisión de Salud Municipal de Wuhan, China y la Comisión de Salud Nacional de China del 10 al 24 de enero de 2020	La neumonía por el nuevo coronavirus (2019-nCoV) ha causado 2033 casos confirmados, incluidas 56 muertes en China continental, para el 26/01/2020 a las Estimamos que la R 0 media varía de 2,24 a 3,58 con un aumento de 8 a 2 veces en la tasa de notificación.	Zhao et al. (2020)
China	Estabilidad del SARS-CoV-2 en diferentes condiciones ambientales	Se midió la estabilidad del SARS-CoV-2 a diferentes temperaturas.	El virus es muy estable a 4 ° C, pero sensible al calor. A 4 ° C, solo hubo una reducción de aproximadamente 0,7 unidades logarítmicas del título infeccioso el día 14. Con la temperatura de incubación aumentada a 70 ° C, el tiempo de inactivación del virus se redujo a 5 minutos.	(Chin et al., 2020)
Reino Unido	Mostrar la aplicación de WBE como una herramienta eficaz para la vigilancia de enfermedades infecciosas.	Descripción general crítica del estado actual de vigilancia de las enfermedades infecciosas, así como presenta WBE y sus avances recientes.	Epidemiología basada en aguas residuales como sistema de alerta temprana de brotes de enfermedades. Se requieren avances rápidos para utilizar WBE en la vigilancia de enfermedades infecciosas. Es necesario desarrollar una línea de descubrimiento de biomarcadores para los marcadores de enfermedades infecciosas.	(Sims & Kasprzyk-Hordern, 2020)

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
España y Francia	Eliminación del SARS-CoV-2 a lo largo de los procesos de tratamiento de aguas residuales y lodos	Se monitorearon las líneas de tratamiento de 16 plantas de tratamiento de aguas residuales para evaluar la remoción de ARN del SARS-CoV-2 en aguas crudas procesadas y lodos, de marzo a mayo de 2020.	El ARN del SARS-CoV-2 se detectó con frecuencia en aguas residuales de regiones con una alta incidencia de COVID-19. Los tratamientos secundarios se redujeron, la MBR y la cloración eliminaron el ARN del SARS-CoV-2 de las aguas residuales. Se detectó ARN del SARS-CoV-2 en el lodo después del espesamiento y la digestión, pero no después de la hidrólisis térmica. Los bacteriófagos específicos de F podrían servir como sustitutos conservadores del SARS-CoV-2 en el tratamiento del agua	(Serra-Compte et al., 2021)
Reino Unido	Analizar los sistemas de plomería de aguas residuales como un modo de transmisión del virus	Se investigo mecanismos de transmisión cruzada, mejoras en el monitoreo del sistema de plomería de aguas residuales como reservorio de patógenos	La interconexión de la red de plomería de aguas residuales puede facilitar la exposición al SARS-CoV-2 dentro o incluso entre edificios. Esto es especialmente preocupante en entornos de transmisión de alto riesgo, como hospitales y edificios de atención médica. Se demostró que los organismos viables se transmiten entre habitaciones en diferentes pisos de un edificio, transportados dentro del flujo de aire del sistema	(Gormley et al., 2020)
EUA	Características epidemiológicas y clínicas del primer caso de infección por 2019-nCoV	Las muestras de orina y heces se almacenaron entre 2 °C y 8°C. Las muestras para repetir las pruebas de 2019-nCoV se recolectaron en los días 7, 11 y 12 de la enfermedad en suero y muestras de orina y heces.	La detección de ARN de 2019-nCoV en muestras del tracto respiratorio superior con valores bajos de Ct el día 4 y el día 7 de la enfermedad sugiere cargas virales altas y potencial de transmisibilidad. Es notable que también detectamos ARN de 2019-nCoV en una muestra de heces recolectada el día 7 de la enfermedad del paciente. Aunque las muestras de suero del paciente fueron repetidamente negativas para 2019-nCoV, se ha detectado ARN viral en la sangre de pacientes gravemente enfermos en China.	(Holshue et al., 2020).
México	Analizar información sobre las implicaciones de la infección por COVID-19 en la salud humana y el impacto de su presencia en el medio ambiente	Este estudio es de carácter exploratorio, investiga la influencia que genera el medio ambiente en la supervivencia y comportamiento del virus COVID-19 y cómo afecta a diferentes ambientes	La propuesta de que este virus puede sobrevivir en superficies durante horas o días sugiere que es un patógeno potencial capaz de ser transmisible a través de aguas residuales no tratadas, desechos no tratados y suelo, o su entrada a otras formas de vida permitiendo su difusión en el medio ambiente y bajo su superficie. influencia para cambiar sus características.	(SanJuan-Reyes et al., 2021).
Chile	Robustecer la idea de un posible modo de transmisión del virus en sistemas acuáticos.	Impacto sobre el medio ambiente, salud humana y contaminación viral de ecosistemas acuáticos	El virus SARS-CoV-2, permanece hasta 18 días en el tracto respiratorio, 16 días en suero y hasta 22 días en las heces. Más del 60% de los infectados permanecen positivos en las heces, incluso después que las muestras nasofaríngeas son negativas. La eliminación en las heces puede tardar hasta siete días, independiente de la gravedad de la enfermedad.	(Godin et al., 2021).
China	El origen, la transmisión y las terapias clínicas del brote de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19)	Resumen de los últimos avances de investigación de la epidemiología, patogénesis y características clínicas del COVID-19.	El método de diagnóstico clínico de COVID-19 es la detección de ácido nucleico en el muestreo de frotis nasal y faríngeo u otras muestras del tracto respiratorio mediante PCR en tiempo real y confirmado por secuenciación de próxima generación. El SARS-CoV-2, que se origina en un reservorio de murciélagos y huéspedes intermediarios desconocidos, se une a ACE2 con alta afinidad como receptor de virus para infectar a los seres humanos.	(Guo et al., 2020)

LUGAR	OBJETIVO	DESCRIPCIÓN	RESULTADOS	REFERENCIA AUTOR
China	Factores ambientales en la transmisión del nuevo coronavirus (COVID-19)	Posibles rutas de transmisión de Covid - 19	Los niveles de virus infecciosos en muestras ambientales pueden ser bajos, lo que requiere el desarrollo de métodos de alta sensibilidad para la cuantificación precisa del virus COVID-19.	(Qu et al., 2020).
Colaboración de autores, Italia, China y Reino Unido.	Estado del arte con respecto al coronavirus (en general y para cepas epidémicas) en el medio acuático,	tipo y cepa de coronavirus, tipo de muestra de agua, tipo de estudio (experimental o de campo), métodos de detección, datos de seguimiento, datos de supervivencia, efecto de la desinfección y tratamientos.	los resultados de experimentos in vitro de supervivencia prolongada del virus con temperaturas decrecientes sugieren que el coronavirus excretado en las heces podría llegar a las plantas de tratamiento de aguas residuales en estado infeccioso, especialmente en climas fríos. Evaluar las implicaciones de la reutilización del agua para la agricultura, incluida la posibilidad de contaminación de alimentos (verduras crudas). Establecer un sistema de vigilancia a través del monitoreo de aguas residuales de la posible circulación de virus.	(Carducci et al., 2020)
China	Dinámica de transmisión temprana en Wuhan, China, de la neumonía infectada por el nuevo coronavirus	Características demográficas, el historial de exposición y los cronogramas de enfermedad de los casos confirmados por laboratorio que se habían informado hasta el 22 de enero de 2020	Estimamos un R_0 de aproximadamente 2.2, en promedio, cada paciente ha estado propagando la infección a otras 2,2 personas. Se estimó que el R_0 del SRAS era de alrededor de 3 y los brotes de SRAS se controlaron con éxito, mediante el aislamiento de los pacientes y un cuidadoso control de las infecciones.	(Li et al., 2020)
Emiratos Árabes Unidos	Detección y cuantificación del ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales y efluentes tratados	Efluentes tratados de 11 plantas de tratamiento y 38 muestras de aguas residuales sin tratar	Las estimaciones de la prevalencia de la infección por SARS-CoV-2 en diferentes regiones se simularon utilizando Monte Carlo. Los resultados mostraron que la carga viral en los afluentes de aguas residuales de estas plantas de tratamiento de aguas residuales osciló entre $7.50E + 02$ y más de $3.40E + 04$ copias de genes virales / L, y algunas plantas no tenían ARN viral detectable por RT-qPCR. El virus también se detectó en el 85% de las muestras de aguas residuales sin tratar tomadas de diferentes lugares del país, con cargas virales en muestras positivas que oscilan entre $2.86E + 02$ y más de $2.90E + 04$ copias del gen / L.	(Hasan et al., 2021)

*PTAR: Planta de Tratamiento de Agua Residual /EDAR: Estación Depuradora de Aguas Residuales

Ct: Umbral del ciclo hace referencia al número de ciclos en un ensayo de RT-PCR necesario para amplificar el ARN viral para alcanzar un nivel detectable

Fuente: Elaboración propia.

Métodos y procesos utilizados actualmente para el monitoreo y cuantificación del SARS-CoV-2 en el tratamiento de agua residual

Los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales no son lo suficientemente eficientes para eliminar todos los microorganismos patógenos (Simmons & Xagorarakis, 2011).

Se han detectado varios patógenos como *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia* y una variedad de bacterias y virus entéricos en aguas residuales convencionales con tratamiento secundario y terciarios (Zanetti et al., 2006). Según Qiu et al. (2015), las aguas residuales municipales contienen más de 100 tipos de virus patógenos de origen humano y animal, y Albert Bosch et al., (2008) exponen que las personas eliminan virus en niveles que oscilan entre 10^5 a 10^{13} partículas de virus por gramo de heces, en su mayoría no patógenos, de acuerdo con los resultados obtenidos en la revisión (Tabla 1), países como España, China, India, Estados Unidos, Holanda, Francia, Australia, Alemania, Emiratos Árabes Unidos, Italia, Japón, Holanda, Brasil y Ecuador, cuantificaron y reportaron el ARN viral de SARS-CoV-2 en aguas residuales basando sus estudios mediante el muestreo de aguas residuales tratadas o no tratadas de las PTAR, procedentes de tratamientos primarios, secundarios y/o terciarios, efluentes, lodos, sistemas de alcantarillados y vertimientos a ríos. Las muestras analizadas correspondieron tanto a muestras compuestas como a muestras instantáneas, cuya técnica de cuantificación de la carga viral de SARS-CoV-2 más utilizada fue la reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcripción (RT-PCR) o RT-qPCR en tiempo real, en un periodo de estudio entre los meses de febrero y junio del año 2020.

Actualmente no existe una metodología estandarizada para la concentración y detección del SARS-CoV-2, por lo que investigadores adaptaron y utilizaron metodologías existentes utilizadas en muestras con muy alta variabilidad, en términos de sólidos suspendidos, contenido de materia orgánica y otros contaminantes (Solán, 2020). Sin embargo, de acuerdo con el “Protocolo de Mejores Prácticas” validado por SCORE COST Action ES 1307, el agua residual destinada al análisis químico debe ser muestreada como una muestra compuesta de 24 horas (Castiglioni et al., 2014), una vez obtenida la muestra (generalmente entre 50 y 500 ml) se procede a obtener la concentración viral para poder determinar posteriormente la presencia de material genético de SARS-CoV-2 (Alygizakis et al., 2021). En un estudio realizado por Rusiñol et al., (2020) las metodologías más utilizadas para la concentración de virus a partir de estas muestras son: ultrafiltración centrífuga, ultrafiltración, precipitación con polietilenglicol, floculación con hidróxido de aluminio, y adsorción sobre partículas positivamente cargadas y

posterior elución. Una vez concentrada la muestra, se purifican los ácidos nucleicos presentes, teniendo un foco especial en el ARN que constituye el material genético del virus.

Para la extracción del virus, se utilizan actualmente dos métodos principales de extracción de ARN previo a la RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2: la cromatografía de columna y la aplicación de partículas magnéticas (Cuadra et al., 2021). Una estrategia es la extracción química utilizando tiocianato de guanidinio-fenol-cloroformo, para lograr la extracción del ARN en una fase acuosa que posteriormente se concentra por precipitación alcohólica. Por otro lado, se pueden utilizar columnas de sílica, o partículas magnéticas, en las cuales el ARN es absorbido en presencia de un agente caotrópico y posteriormente es eluido con agua o distintos buffers, también se puede utilizar una combinación de ambos métodos. Es fundamental obtener el ARN con la mayor pureza posible para después detectarlo con la sensibilidad y especificidad que se requiere.

Los estudios realizados a la fecha demostraron que una extracción de ARN con éxito podría realizarse con kits comerciales, por el cual el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América (CDC, por sus siglas en inglés), autoriza el uso de diferentes kits, dentro de los cuales se incluyen: el mini kit QIAamp® Viral RNA (utilizado en mayoría de publicaciones), QIAamp® DSP Viral RNA Mini Kit, EZ1® DSP Virus Kit and Buffer AVL, Roche MagNA Pure™ Total Nucleic Acid Kit*, Roche MagNA Pure™ 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit (Cuadra et al., 2021). Finalmente, una vez obtenido el ARN puro, se procede a la detección específica y cuantificación del material genético del virus, la técnica comúnmente empleada es la PCR en tiempo real (RT-qPCR), que tiene como blanco de la detección distintas regiones del genoma viral (Solonet, 2020), cuyo resultados se considera positivo si las muestras con Ct (umbral de ciclo) es inferior a 40 y sus concentraciones se determinan en copias del genoma / volumen de muestra, indican Medema et al. (2020) y Wu et al. (2020).

Vigilancia epidemiológica de SARS-CoV-2 basada en aguas residuales

El ARN viral de SARS-CoV-2 puede permanecer en pacientes diagnosticados con Covid -19 antes y después de la recuperación en un promedio de 12,5 días y hasta de 33 días luego de que las pruebas respiratorias den resultados negativos (van Doorn et al., 2020). Tal es el caso de un estudio realizado por Cheung et al. (2020), en Hong Kong, cuya muestra de N=59 pacientes; durante 27 días, observaron que los síntomas gastrointestinales estaban presentes en el 17,6% de los pacientes diagnosticados con Covid-19 y se detectó en un 48,1% la diseminación viral en las heces de los pacientes, concluyendo que el ARN viral podría persistir hasta ≥ 33 días contemplando el inicio de la enfermedad incluso después de dar negativo al ARN viral en las muestras respiratorias, indicando así que las aguas residuales pueden contener partículas virales o ARN viral que podrían utilizarse como herramienta de vigilancia epidemiológica Gupta et al. (2020).

Para países como Francia, Australia, EUA y Turquía la cuantificación de ARN viral de SARS-CoV-2 oscilo en un intervalo de 10^1 hasta 10^6 copias/L en muestras de agua residual crudas (Cruz-Cruz et al., 2020). Holanda fue el primer país en utilizar la detección del ARN de SARS-CoV-2 en agua residual como una herramienta temprana de vigilancia de Covid-19, evidenciando la circulación del virus a pesar de la baja cantidad de casos confirmados (Medema et al., 2020). En la planta de tratamiento de aguas residuales más grande de Asia con una capacidad de $180 \text{ m}^3/\text{día}$, ubicada en Old Pirana (India), Kumar et al. (2020), realizaron la primera prueba de vigilancia de aguas residuales para Covid-19 a través de la RT-PCR, el muestreo se llevo a cabo los días 8 y 27 de mayo de 2020 con pacientes de Covid-19, se encontraron en el influente una concentración de $5,6 \times 10^3$ copias/ L y $3,5 \times 10^2$ copias/ L correspondiente a más del doble del número de pacientes activos con COVID-19 en la ciudad de Ahmedabad 4912 y 10 674 infectados en las fechas de estudio.

Por otro lado, los niveles de virus SARS-CoV-2 circulantes en las aguas residuales estuvieron directamente relacionados con el aumento en los casos clínicos notificados, como lo sucedido en Francia, los investigadores Wurtzer et al. (2020) analizaron 3 EDAR en Paris, tomaron alrededor de 30 muestras de agua las cuales dieron positivas a SARS-CoV-2, al inicio

de la epidemia se cuantificó $5 \cdot 10^4$ copias/L, el título aumentó en 2-log con un crecimiento exponencial hasta $3 \cdot 10^6$ copias/L y finalmente se observó una disminución de 1-log en promedio durante en 49 días. Randazzo et al. (2020b, 2020a) en las ciudades de Murcia y Valencia, fortalecen la evidencia sobre la detección y cuantificación de SARS-CoV-2 en agua residual cruda como herramienta para monitorear el curso de la epidemia en el tiempo y la capacidad de poder identificar el inicio, pico máximo y descenso de del virus en la población con días de anticipación.

En Brasil, un estudio realizado por Claro et al., (2021) estudio tuvo como objetivo implementar una metodología de vigilancia de aguas residuales de bajo costo para monitorear la circulación del SARS-Cov-2 en áreas de bajos ingresos en la Región Metropolitana de Sao Paulo, se analizaron 220 muestras de aguas residuales no tratadas de cinco puntos de la Región (2 EDAR y 3 alcantarillados) entre el 9 de junio de 2020 y el 7 de abril de 2021, para la ocurrencia de ARN del SARS-CoV-2 se utilizaron los ensayos de genes RT-qPCR N1 y N2 en todas las muestras de aguas residuales, con base a los resultados obtenidos se detectó en el 53% y el 34% de las muestras de aguas residuales positivas, para los ensayos de genes N1 y N2, respectivamente, la concentración osciló entre 2,7 y 7,7 log, con picos en las últimas semanas de monitoreo, adicional a esto se determinó la prevalencia de la enfermedad para cada sitio de muestreo mediante la simulación de Monte-Carlo utilizando la carga viral de las aguas residuales basados en datos de autores como Rose et al. (2015); Kitajima et al. (2020) y Gholipour et al., (2021) en lo que concierne a los parámetros de carga fecal (α) y la tasa de eliminación del SARS-CoV-2 (β), la prevalencia media prevista osciló entre 0,05 y 0,38%, un poco más alta que la informada ($0,016 \pm 0,005\%$) (10 veces más) en la Región ABC para el mismo período, por ende estos resultados destacan la viabilidad de la vigilancia de aguas residuales para el monitoreo puesto que se detectó un aumento de casos dos semanas antes de ser notificados por las autoridades de salud.

La presencia de ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales no tratadas se ha observado en diferentes estudios en todo el mundo (Medema et al., 2020; Wurtzer et al., 2020 ; La Rosa et al., 2020 ; Nemudryi et al., 2020 ; Ahmed et al., 2020). No obstante, es motivo de preocupación

y de vital importancia prestar atención a aquellos países donde no se tratan las aguas residuales y se vierten en los ríos, generando así alto riesgo de infección a las poblaciones y los animales que estén en contacto con aguas residuales. En Quito (Ecuador) se analizaron muestras de aguas residuales no tratadas del alcantarillado combinado de la ciudad, (aproximadamente 3 millones de habitantes) el cual mediante sus ríos urbanos (altamente contaminados) vierten finalmente al Río Quito, se tomaron muestras el 5 de junio y 14 días antes del día del muestreo, los resultados demostraron la presencia de ARN viral del SARS-CoV-2 en tres lugares a lo largo del río Quito, en concentraciones que oscilan entre 2.84×10^5 a 3.19×10^6 copias de genes / L para el objetivo N1 y 2.07×10^5 a 2.23×10^6 copias de genes / L para la diana N2 (Guerrero-Latorre et al., 2020), la recolección de muestras fue durante un pico del brote, ya que los casos activos representan el 25% del total de casos de Covid-19 reportados en la ciudad desde el inicio del brote y en donde se determinó una carga viral más alta que las notificadas de casos nuevos positivos detectados hasta el momento por las autoridades de salud (pasaron de obtener 3015 casos positivos a 750 el día 5 de junio), los autores sugieren que las concentraciones medidas manifiestan una gran fracción no diagnosticada de pacientes con Covid-19, así como casos de pacientes asintomáticos o presintomáticos (Michael-Kordatou et al., 2020).

Sin embargo, en un estudio realizado por Haramoto et al., (2020) demostró la ausencia de SARS-CoV-2 a partir de agua de río en la prefectura de Yamanashi (Japón) en tres ocasiones diferentes de muestreo en los meses de mayo y abril en sus muestras de río, del mismo modo, Rimoldi et al. (2020), también examinó el agua de los ríos Lambro y Meridionale (Italia) para detectar la presencia de SARS-CoV-2, las muestras fueron tomadas el 14 de abril y 22 de abril y sólo las muestras de río Lambro fueron positivas para el virus el 22 de abril, claro está que estos resultados obtenidos por los investigadores indican que el tratamiento de las aguas residuales en la PTAR (como la cloración), contribuyeron a la disminución y posterior inactivación del virus en sus vertimientos finales.

En vista de que la supervivencia de los virus en el efluente primario es mayor que en el efluente secundario ya que en el tratamiento primario; la sedimentación, los virus adheridos a

los sólidos están protegidos, mientras que en el tratamiento secundario los protozoos, las bacterias antagonistas depredan a los virus y la adsorción en el lodo puede eliminarse, como biosólidos (Saba et al., 2021), las altas temperaturas presentadas también pueden permitir la reducción de las tasas de supervivencia viral y el peligro de infección en los efluentes de la PTAR (Saba et al., 2021) puesto que según John & Rose (2005), los virus muestran una correlación de la temperatura con mayor inactivación a mayores temperaturas (principalmente a temperaturas superiores a 20°C) debido a que estas, desnaturalizan las proteínas virales y aumentan la actividad enzimática extracelular permitiendo así reducir las tasas de supervivencia.

El tratamiento secundario y de lodos en la EDAR de Ourense (España) mostró que, en efecto, la mayoría de las partículas de SARS-CoV-2 no pueden detectarse en el efluente de agua, ya que son retenidas por la línea de lodos debido a su afinidad de absorción del virus y que los lodos presentan mayor concentración de sólidos (más partículas de virus) y mayor tiempo de residencia (menos sensible a la dilución provocada por la precipitación) (Balboa et al., 2020).

Peccia et al. (2020) y Kocamemi et al. (2020) exploraron el uso de lodos activados primarios y lodos espesados de las PTAR para la detección de SARS-CoV-2, en sus resultados de ARN viral se encontró un intervalo de concentración de 10^3 a 10^4 copias/L (Cruz-Cruz et al., 2020), observándose que estas concentraciones siguieron las curvas epidemiológicas establecidas con el número de casos confirmados e ingresos hospitalarios respectivamente. En el caso de Peccia et al. (2020) sus resultados demostraron que la concentración de ARN viral del SARS-CoV-2 osciló entre dos y tres órdenes de magnitud más que en los lodos primarios en comparación con las aguas residuales sin tratar debido al mayor contenido de sólidos (Tabla 1) y Kocamemi et al. (2020) encontró que el número de copias de SARS-CoV-2 en ambos tipos de lodo era similar (Ct entre 33,5 y 35,8 correspondiente a títulos de SARS-CoV-2 que oscilan entre $1,17 \times 10^4$ y $4,02 \times 10^4$ copias del genoma por litro). Por lo que Michael-Kordatou et al. (2020) señala que la presencia de la secuencia genética del virus en los sólidos del lodo no justifica la virulencia del propio virus, quien agrega que hasta la fecha, también existe falta de información en relación al muestreo, almacenamiento y procesamiento de lodos de depuradora para la detección del

SARS-CoV-2 en la PTAR. Considerando los hallazgos de los estudios anteriores se demuestra la factibilidad de la detección y cuantificación del ARN de SARS-CoV-2 en agua residual cruda, en lodo primario y espesado de PTAR y la utilización del monitoreo de las aguas residuales como una herramienta adicional para la vigilancia de la pandemia de Covid-19.

Del mismo modo surgen nuevas técnicas para detectar el virus, tal es el caso de un equipo de investigadores en Pakistán, China y Estados Unidos, quienes propusieron un modelo de rápida detección y saneamiento del SARS-CoV-2 en aguas servidas, donde plantean que la aplicación de nanomateriales mitigará la contaminación biológica del agua (nanotecnología para la remediación de virus de aguas residuales en regiones en desarrollo), ya que es una herramienta de detección temprana del virus presente en el agua, involucrando varios materiales a nanoescala, algunos de estos materiales como plata (Ag), dióxido de titanio (TiO_2), tetratiomolibdato de amonio (ATTM) y tetraetoxisilano (TEOS) mezclados con poliacrilonitrilo (PAN), contando con alta eficiencia como nanometales, nanoadsorbentes, fotocatalizadores y nanomembranas, en la que se ha demostrado que el uso de nanofibras, partículas y membranas compuestas erradican de manera eficaz los patógenos como bacterias, protozoos y virus, por lo que el uso potencial de nanosensores para la detección temprana y el monitoreo de SARS-CoV-2 debe llevarse a cabo en condiciones específicas para cada área de desarrollo (Adeel et al., 2021). Esta combinación de nanotecnología con epidemiología basada en aguas residuales e inteligencia artificial para la detección del virus y la remediación de aguas residuales a nivel comunitario se utiliza en Estonia, Finlandia, Francia, Singapur, Turquía, el Reino Unido y los Estados Unidos, puesto que la generación de nano sensores que detecten rápidamente la presencia de coronavirus en las aguas domésticas o residuales, sirven de base para los programas de vigilancia sanitaria gubernamentales (Hassard et al., 2021), confirmando así que, los usos de estas técnicas sirven para monitorear eficazmente, la proliferación del virus en las comunidades y predecir futuros brotes en la población.

Otro método alternativo, corresponde a un dispositivo de papel que logra identificar la presencia del material genético del SARS-CoV-2 presente en las aguas residuales, siendo este, un dispositivo económico y fácil de usar, por ende, este tipo de opciones ayudan al monitoreo de

comunidades para la detección temprana del virus, donde se pueden implementar intervenciones efectivas tan pronto como sea posible para limitar el desplazamiento de poblaciones locales y trabajar para minimizar la propagación de patógenos y amenazas a la salud pública por lo que papel analítico resulta ser una poderosa herramienta que permite ensayos sensibles con alta precisión proporcionando diagnósticos de manera rápida y eficaz (Mao et al., 2020).

Remoción del SARS-CoV-2 en sistemas de tratamiento de aguas residuales

Las plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales consisten generalmente en sedimentación primaria, tratamiento aeróbico secundario y cloración de efluentes antes de su reutilización final o descarga en los cuerpos de agua superficiales (Saba et al., 2021). Procesos tales como tratamientos con carbón activado, lodos activados, lagunas de oxidación, filtración y cloración remueven gran parte de los virus presentes en las aguas residuales, aunque en muchas ocasiones, una carga viral significativa puede permanecer en los efluentes logrando contaminar así arroyos, ríos y otros cuerpos de agua (Cloete et al., 1998). La remoción física de las partículas por procesos como la coagulación, floculación, sedimentación y filtración, ayudan a la remoción de los virus en los efluentes de aguas residuales (Templeton et al., 2005). Así mismo, la remoción adicional de los contaminantes biológicos puede ser realizada mediante desinfección con cloro, ácido paracético, ozono o irradiación con luz ultravioleta (UV) (Mezzanotte et al., 2007).

Gerba et al., (2017) afirma que la eliminación de los virus es mayor durante el tratamiento secundario en las PTAR, lo que puede atribuirse a la adsorción de lodos activados y sólidos en suspensión, lo que conduce a que factores del tratamiento de lodos expuestos a altas temperaturas, a cambios de pH y a microorganismos depredadores inactiven eficazmente los virus. En un estudio realizado por Chin et al., (2020) se encontró que el SARS-CoV-2 era muy estable a 4°C pero sensible al calor, por lo que estudiaron un cambio de temperaturas de 22°C a 70°C, cuyo tiempo de supervivencia del virus se redujo a 5 minutos a medida que la temperatura de incubación aumentaba a los 70°C destacando así su sensibilidad de este virus

hacia valores altos de temperatura, por lo que, los tratamientos anaeróbicos de lodos eliminan patógenos mediante la desnaturalización de las proteínas y los ácidos nucleico, hecho que corroboran (Serra-Compte et al., 2021) quienes muestrearon 16 PTAR (España y Francia), analizaron 107 muestras de lodos entre ellos lodos digeridos más hidrólisis térmica, cuyas muestras fueron de 0,4 L de lodos primarios, secundarios y mixtos, las altas temperaturas aplicadas durante este tratamiento oscilaron entre 150–160 °C, logrando la remoción completa del ARN viral con una eliminación logarítmica superior a $1,69 \pm 0,27$, por lo que se infiere que la hidrólisis térmica de lodos permite una inactivación completa del SARS-CoV-2 y admite el uso de los lodos para la agricultura de manera segura.

Ahora bien, Randazzo, et al. (2020) estudió la presencia del virus en muestras de agua residual en 6 EDAR de la Región de Murcia (España) tanto en el tratamiento secundario como en el tratamiento terciario, encontrando el 11% (2/18) de ARN viral de SARS-CoV-2 en muestras con tratamiento secundario y 0% en muestras con tratamiento terciario utilizando desinfección con el hipoclorito de sodio (NaCl), del mismo modo, las investigaciones de Zhang, et al. (2020) en 3 hospitales de China (Hospital de Jinyitan, Huoshenshan y Wuchang Fangcang) utilizaron una concentración 800 g/m³ de hipoclorito de sodio para eliminar el virus (se desconoce el caudal de dosificación), siendo la desinfección un método efectivo para tratar las aguas residuales en los hospitales y en las PTAR.

Las experiencias en cuanto a la eliminación del SARS-CoV-2 ha determinado que aquellos sistemas de tratamiento donde se tiene un tratamiento terciario como la desinfección se puede realizar la inactivación del virus eficazmente. El tratamiento UV y la ozonización resultan ser los más efectivos, siendo la radiación UV el método más eficiente en virus con envoltura puesto que los COVID-19 son sensibles al oxígeno y los rayos UV alteran la proteína pico (S), dañando así el genoma viral (Saba et al., 2021a). El proceso de desinfección de la radiación UV es una tecnología de fácil manejo, pero esta tiene una alta demanda de energía, lo cual podría ser un factor limitante en el momento de la implementación. Estos resultados sugieren que los métodos de tratamiento de aguas residuales implementados pueden eliminar el SARS-CoV-2 de las aguas residuales y producir agua tratada de alta calidad.

Conclusiones

Tras la investigación realizada en el presente trabajo de grado, se analizaron estudios realizados a nivel internacional, estos estudios fueron hechos en 50 países de diferentes continentes como Europa, Asia, América y Oceanía, donde se analizaron temas principales como la eliminación del SARS CoV-2 a lo largo de los procesos de depuración de las PTAR, la cuantificación y detección del ARN viral del SARS-CoV-2 en agua residual, la eliminación del SARS-CoV-2 a lo largo de los procesos de tratamiento de aguas residuales y por último, el comportamiento y la estabilidad del SARS CoV-2 en sistemas de tratamiento; así como de alcantarillado en diferentes condiciones ambientales.

La epidemiología basada en agua residual es una herramienta de monitoreo que ayuda a diagnosticar los casos de Covid-19 en una población determinada, favoreciendo la toma de decisiones entorno a los aislamientos prematuros de casos positivos, cooperando con la disminución de contagios y el impacto a la salud pública. Mientras el SARS-CoV-2 sea viable en condiciones que facilitan la infección por la transmisión vía fecal-oral, es de vital importancia continuar con las investigaciones referidas a esta vía de propagación, como son las aguas residuales. En adición, es necesario considerar el déficit en infraestructura de saneamiento referido al tratamiento de agua residual, esto aumenta el riesgo de trasmisión considerando las fuentes de captación de los acueductos tanto urbanos como rurales que pueden estar expuestos a vertimientos de este tipo. La presencia del virus en las heces fecales se considera infecciosas en promedio durante 2 días a 20°C y durante 14 días a 4°C, por tanto, el agua que circula por los sistemas de alcantarillado sanitario, se debe evaluar como un agente de interés en la dispersión del virus. No obstante, tras el análisis de la literatura recolectada, se logra establecer que en las plantas de tratamiento de agua residual es fundamental priorizar la construcción de procesos primarios, secundarios y terciarios de depuración, esto aunado a la desinfección del efluente para garantizar la eliminación del SARS-CoV-2.

Bajo las investigaciones y experiencias relacionadas que se han desarrollado en torno la incidencia del SARS CoV-2 en el agua residual se ha podido observar que para la eliminación del virus se propone que la técnica de mayor utilización en el momento para hacer la identificación del virus es la prueba RT-PCR, consecuentemente para la eliminación del virus implementan tratamientos terciarios como la desinfección con hipoclorito de sodio, ozonización y finalmente la radiación UV siendo esta la más eficiente y de fácil operación.

Referencias

- Adeel, M., Farooq, T., Shakoor, N., Ahmar, S., Fiaz, S., White, J. C., Gardea-Torresdey, J. L., Mora-Poblete, F., & Rui, Y. (2021). COVID-19 and Nanoscience in the Developing World: Rapid Detection and Remediation in Wastewater. En *Nanomaterials* (Vol. 11, Número 4). <https://doi.org/10.3390/nano11040991>
- Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., O'Brien, J. W., Choi, P. M., Kitajima, M., Simpson, S. L., Li, J., Tschärke, B., Verhagen, R., Smith, W. J. M., Zaugg, J., Dierens, L., Hugenholtz, P., Thomas, K. V., & Mueller, J. F. (2020a). 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. *Science of the Total Environment*, 728, 138764. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>
- Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., O'Brien, J. W., Choi, P. M., Kitajima, M., Simpson, S. L., Li, J., Tschärke, B., Verhagen, R., Smith, W. J. M., Zaugg, J., Dierens, L., Hugenholtz, P., Thomas, K. V., & Mueller, J. F. (2020b). 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. *Science of The Total Environment*, 728, 138764. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>
- Alygizakis, N., Markou, A. N., Rousis, N. I., Galani, A., Avgeris, M., Adamopoulos, P. G., Scorilas, A., Lianidou, E. S., Paraskevis, D., Tsiodras, S., Tsakris, A., Dimopoulos, M. A., & Thomaidis, N. S. (2021). Analytical methodologies for the detection of SARS-CoV-2 in

- wastewater: Protocols and future perspectives. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 134, 116125. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116125>
- Balboa, S., Mauricio-Iglesias, M., Rodriguez, S., Martínez-Lamas, L., Vasallo, F. J., Regueiro, B., & Lema, J. M. (2020). The fate of SARS-CoV-2 in WWTPs points out the sludge line as a suitable spot for monitoring. *medRxiv*, 2020.05.25.20112706. <https://doi.org/10.1101/2020.05.25.20112706>
- Bender, L. (2020). Mensajes y acciones importantes para la prevención y el control del COVID-19 en las escuelas. *Unicef*, 1-14. https://www.unicef.org/lac/sites/unicef.org.lac/files/2018-04/20160217_Nota_Tecnica_Prevencion-Zika_Escuelas_Esp.pdf
- Bosch, A., Guix, S., Sano, D., & Pintó, R. M. (2008). New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 295-301. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.04.006>
- Carducci, A., Federigi, I., Liu, D., Thompson, J. R., & Verani, M. (2020). Making Waves: Coronavirus detection, presence and persistence in the water environment: State of the art and knowledge needs for public health. *Water Research*, 179, 115907. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115907>
- Castiglioni, S., Thomas, K. V., Kasprzyk-Hordern, B., Vandam, L., & Griffiths, P. (2014). Testing wastewater to detect illicit drugs: State of the art, potential and research needs. *Science of The Total Environment*, 487, 613-620. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.034>
- Cheung, K. S., Hung, I. F. N., Chan, P. P. Y., Lung, K. C., Tso, E., Liu, R., Ng, Y. Y., Chu, M. Y., Chung, T. W. H., Tam, A. R., Yip, C. C. Y., Leung, K., Fung, A. Y., Zhang, R. R., Lin, Y., Cheng, H. M., Zhang, A. J. X., To, K. K. W., Chan, K., ... Leung, W. K. (2020). *Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples From a Hong Kong Cohort: Systematic Review and Meta-analysis*. 81-95. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.03.065>
- Chin, A. W. H., Chu, J. T. S., Perera, M. R. A., Hui, K. P. Y., Yen, H.-L., Chan, M. C. W.,

- Peiris, M., & Poon, L. L. M. (2020). Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *The Lancet Microbe*, *1*(1), e10. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30003-3)
- Choi, P. M., Tscharke, 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. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *105*, 453-469. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.06.004>
- Claro, I. C. M., Cabral, A. D., Augusto, M. R., Duran, A. F. A., Graciosa, M. C. P., Fonseca, F. L. A., Speranca, M. A., & Bueno, R. de F. (2021). Long-term monitoring of SARS-COV-2 RNA in wastewater in Brazil: A more responsive and economical approach. *Water Research*, *203*, 117534. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117534>
- Cloete, T. E., Da Silva, E., & Nel, L. H. (1998). Removal of waterborne human enteric viruses and coliphages with oxidized coal. *Current Microbiology*, *37*(1), 23-27. <https://doi.org/10.1007/s002849900331>
- Cruz-Cruz, C., Rodríguez-Dozal, S., Cortez-Lugo, M., Ovilla-Muñoz, M., Carnalla-Cortés, M., Sánchez-Pájaro, A., & Schilman, A. (2020). Revisión rápida: monitoreo de la presencia e infectividad del virus SARS-CoV-2 y otros coronavirus en aguas residuales. *Salud Publica de Mexico*, *63*(1), 109-119. <https://doi.org/10.21149/11783>
- Cuadra, T. E., Guadrón Meléndez, A. A., Cruz Aguilar, R. D. J., & Vásquez Rodriguez, E. A. (2021). Factores relevantes sobre el ensayo RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2, virus causante del COVID-19. *Alerta, Revista científica del Instituto Nacional de Salud*, *4*(1), 31-39. <https://doi.org/10.5377/alerta.v4i1.10060>
- Cuevas-Ferrando, E., Randazzo, W., Pérez-Cataluña, A., & Sánchez, G. (2020). HEV Occurrence in Waste and Drinking Water Treatment Plants. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2937. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02937>
- Daughton, C. (2020). The international imperative to rapidly and inexpensively monitor community-wide Covid-19 infection status and trends. *Science of The Total Environment*, *726*, 138149. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138149>

- Derwerker, R. Van. (1949). *La Ingeniería Sanitaria En La Salubridad Internacional**.
<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/13316/v28n10p1034.pdf?sequence=1>
- Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia. (2020). *COVID-19: Preguntas frecuentes*.
<https://www.unicef.org/es/coronavirus/lo-que-los-padres-deben-saber>
- Fung, T. S., & Liu, D. X. (2019). Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. *Annual Review of Microbiology*, 73(1), 529-557. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115759>
- García, M. E. (2006). Virus en aguas de consumo. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 6(6), 173-189.
http://www.salud-publica.es/secciones/revista/revistaspdf/bc510159f5f2fa3_Hig.Sanid.Ambient.6.173-189%282006%29.pdf
- Gerba, C. P., Betancourt, W. Q., & Kitajima, M. (2017). How much reduction of virus is needed for recycled water: A continuous changing need for assessment? *Water Research*, 108, 25-31. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.020>
- Gholipour, S., Mohammadi, F., Nikaeen, M., Shamsizadeh, Z., Khazeni, A., Sahbaei, Z., Mousavi, S. M., Ghobadian, M., & Mirhendi, H. (2021). COVID-19 infection risk from exposure to aerosols of wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 273, 129701. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129701>
- Godin, B., Tejada, L., & Arroyo, B. (2021). SARS-CoV-2: Un salto de las heces a los ecosistemas acuáticos. *Revista chilena de infectología*, 38(2), 306-307. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182021000200306>
- Gormley, M., Aspray, T. J., & Kelly, D. A. (2020). COVID-19: mitigating transmission via wastewater plumbing systems. *The Lancet Global Health*, 8(5), e643. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30112-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30112-1)
- Guerrero-Latorre, L., Ballesteros, I., Villacrés-Granda, I., Granda, M. G., Freire-Paspuel, B., & Ríos-Touma, B. (2020). SARS-CoV-2 in river water: Implications in low sanitation countries. *Science of The Total Environment*, 743, 140832.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140832>

- Guo, Y.-R., Cao, Q.-D., Hong, Z.-S., Tan, Y.-Y., Chen, S.-D., Jin, H.-J., Tan, K.-S., Wang, D.-Y., & Yan, Y. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Medical Research*, 7(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>
- Gupta, S., Parker, J., Smits, S., Underwood, J., & Dolwani, S. (2020). Persistent viral shedding of SARS-CoV-2 in faeces – a rapid review. *Colorectal Disease*, 22(6), 611-620. <https://doi.org/10.1111/codi.15138>
- Haramoto, E., Malla, B., Thakali, O., & Kitajima, M. (2020). First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. *Science of The Total Environment*, 737, 140405. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140405>
- Hasan, S. W., Ibrahim, Y., Daou, M., Kannout, H., Jan, N., Lopes, A., Alsafar, H., & Yousef, A. F. (2021). Detection and quantification of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and treated effluents: Surveillance of COVID-19 epidemic in the United Arab Emirates. *Science of The Total Environment*, 764, 142929. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142929>
- Hassard, F., Lundy, L., Singer, A. C., Grimsley, J., & Di Cesare, M. (2021). Innovation in wastewater near-source tracking for rapid identification of COVID-19 in schools. *The Lancet Microbe*, 2(1), e4-e5. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30193-2](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30193-2)
- Holshue, M. L., DeBolt, C., Lindquist, S., Lofy, K. H., Wiesman, J., Bruce, H., Spitters, C., Ericson, K., Wilkerson, S., Tural, A., Diaz, G., Cohn, A., Fox, L., Patel, A., Gerber, S. I., Kim, L., Tong, S., Lu, X., Lindstrom, S., ... Pillai, S. K. (2020). First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *New England Journal of Medicine*, 382(10), 929-936. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191>
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*

(London, England), 395(10223), 497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)

Instituto Catalán de Nanociencia y Nanotecnología. (2020). Técnicas y sistemas de diagnóstico para COVID-19 : clasificación , características , ventajas y limitaciones Diagnóstico de COVID-19 SARS-CoV-2. *NanoB2A* - *ICN2*, 1-10. <http://www.ciencia.gob.es/stfls/MICINN/Ministerio/FICHEROS/TecnicasDiagnosticoCOVID19-ICN2.pdf>

John, D. E., & Rose, J. B. (2005). Review of Factors Affecting Microbial Survival in Groundwater. *Environmental Science & Technology*, 39(19), 7345-7356. <https://doi.org/10.1021/es047995w>

Kocameki, B. A., Kurt, H., Sait, A., Sarac, F., Saatci, A. M., & Pakdemirli, B. (2020). SARS-CoV-2 detection in Istanbul wastewater treatment plant sludges. *medRxiv*, 7. <https://doi.org/10.1101/2020.05.12.20099358>

Kopperi, H., Tharak, A., Hemalatha, M., Kiran, U., Gokulan, C. G., Mishra, R. K., & Mohan, S. V. (2021). Defining the methodological approach for wastewater-based epidemiological studies—Surveillance of SARS-CoV-2. *Environmental Technology and Innovation*, 23, 101696. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101696>

Kumar, M., Patel, A. K., Shah, A. V, Raval, J., Rajpara, N., Joshi, M., & Joshi, C. G. (2020). First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARS-CoV-2. *The Science of the Total Environment*, 746, 141326. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141326>

La Rosa, G., Iaconelli, M., Mancini, P., Bonanno Ferraro, G., Veneri, C., Bonadonna, L., Lucentini, L., & Suffredini, E. (2020). First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Science of The Total Environment*, 736, 139652. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139652>

Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K. S. M., Lau, E. H. Y., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel

- Coronavirus–Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*, 382(13), 1199-1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
- Mao, K., Zhang, K., Du, W., Ali, W., Feng, X., & Zhang, H. (2020). The potential of wastewater-based epidemiology as surveillance and early warning of infectious disease outbreaks. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 17, 1-7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.04.006>
- Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., & Brouwer, A. (2020). 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 Science & Technology Letters*, 7(7), 511-516. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>
- Mezzanotte, V., Antonelli, M., Citterio, S., & Nurizzo, C. (2007). Wastewater disinfection alternatives: chlorine, ozone, peracetic acid, and UV light. *Water Environment Research : A Research Publication of the Water Environment Federation*, 79(12), 2373-2379. <https://doi.org/10.2175/106143007x183763>
- Michael-Kordatou, I., Karaolia, P., & Fatta-Kassinos, D. (2020). Sewage analysis as a tool for the COVID-19 pandemic response and management: the urgent need for optimised protocols for SARS-CoV-2 detection and quantification. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 104306. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104306>
- Montaña, J. (2015). *Aproximación metagenómica para la identificación de enzimas lipolíticas en suelo de busque alto andino del parque nacional natural los nevados*. 1-127. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/17002>
- Nemudryi, A., Nemudraia, A., Wiegand, T., Surya, K., Buyukyoruk, M., Cicha, C., Vanderwood, K. K., Wilkinson, R., & Wiedenheft, B. (2020a). Temporal Detection and Phylogenetic Assessment of SARS-CoV-2 in Municipal Wastewater. *Cell Reports Medicine*, 1(6), 100098. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100098>
- Nemudryi, A., Nemudraia, A., Wiegand, T., Surya, K., Buyukyoruk, M., Cicha, C., Vanderwood, K. K., Wilkinson, R., & Wiedenheft, B. (2020b). Temporal Detection and

- Phylogenetic Assessment of SARS-CoV-2 in Municipal Wastewater. *Cell Reports Medicine*, 1(6), 100098. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100098>
- Panchal, D., Tripathy, P., Prakash, O., Sharma, A., & Pal, S. (2021). SARS-CoV-2: Fate in water environments and sewage surveillance as an early warning system. *Water Science and Technology*, 84(1), 1-15. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.146>
- Peccia, J., Zulli, A., Brackney, D. E., Grubaugh, N. D., Kaplan, E. H., Casanovas-Massana, A., Ko, A. I., Malik, A. A., Wang, D., Wang, M., Warren, J. L., Weinberger, D. M., Arnold, W., & Omer, S. B. (2020). Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics. *Nature Biotechnology*, 38(10), 1164-1167. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0684-z>
- Perera, C. L., & Acevedo, A. M. (2018). Nuevas tendencias en el diagnóstico de enfermedades virales en los animales New trends in the diagnosis of animal viral diseases. *Revista de Salud Animal*, 40(3), 1-10.
- Phan, L. T., Nguyen, T. V., Luong, Q. C., Nguyen, T. V., Nguyen, H. T., Le, H. Q., Nguyen, T. T., Cao, T. M., & Pham, Q. D. (2020). Importation and Human-to-Human Transmission of a Novel Coronavirus in Vietnam. *New England Journal of Medicine*, 382(9), 872-874. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2001272>
- Qiu, Y., Lee, B. E., Neumann, N., Ashbolt, N., Craik, S., Maal-Bared, R., & Pang, X. L. (2015). Assessment of human virus removal during municipal wastewater treatment in Edmonton, Canada. *Journal of Applied Microbiology*, 119(6), 1729-1739. <https://doi.org/10.1111/jam.12971>
- Randazzo, Walter, E., Sanjuan, R., Domingo-Calap, P., & Sanchez, G. (2020). Metropolitan Wastewater Analysis for COVID-19 Epidemiological Surveillance. *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.04.23.20076679>
- 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 Research*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942>
- Rimoldi, S. G., Stefani, F., Gigantiello, A., Polesello, S., Comandatore, F., Mileto, D., Maresca,

- M., Longobardi, C., Mancon, A., Romeri, F., Pagani, C., Cappelli, F., Roscioli, C., Moja, L., Gismondo, M. R., & Salerno, F. (2020). Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. *Science of The Total Environment*, 744, 140911. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140911>
- Rusiñol, M., Martínez-Puchol, S., Forés, E., Itarte, M., Girones, R., & Bofill-Mas, S. (2020). Concentration methods for the quantification of coronavirus and other potentially pandemic enveloped virus from wastewater. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 17, 21-28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.08.002>
- Saba, B., Hasan, S. W., Kjellerup, B. V., & Christy, A. D. (2021). Capacity of existing wastewater treatment plants to treat SARS-CoV-2. A review. *Bioresource Technology Reports*, 15(June), 100737. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100737>
- Sandin, D., & Algorta, G. (2003). Métodos de estudio de bacterias y virus Métodos diagnósticos. *Temas De Bacteriología Y Virología Médica*, 81-98.
- SanJuan-Reyes, S., Gómez-Oliván, L. M., & Islas-Flores, H. (2021). COVID-19 in the environment. *Chemosphere*, 263, 127973. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127973>
- Senante, M. M., Sancho, F. H., & Garrido, R. S. (2012). Estado actual y evolución del saneamiento y la depuración de aguas residuales en el contexto nacional e internacional. *Anales de Geografía de la Universidad Complutense*, 32(1), 69-89. <https://doi.org/10.5209/rev-AGUC.2012.v32.n1.39309>
- Serra-Compte, A., González, S., Arnaldos, M., Berlendis, S., Courtois, S., Loret, J. F., Schlosser, O., Yáñez, A. M., Soria-Soria, E., Fittipaldi, M., Saucedo, G., Pinar-Méndez, A., Paraira, M., Galofré, B., Lema, J. M., Balboa, S., Mauricio-Iglesias, M., Bosch, A., Pintó, R. M., ... Litrico, X. (2021). Elimination of SARS-CoV-2 along wastewater and sludge treatment processes. *Water Research*, 202, 117435. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117435>
- Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., & Siddique, R. (2020). COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced*

- Research*, 24, 91-98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>
- Simmons, F. J., & Xagorarakis, I. (2011). Release of infectious human enteric viruses by full-scale wastewater utilities. *Water Research*, 45(12), 3590-3598. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.04.001>
- Sims, N., & Kasprzyk-hordern, B. (2020). *Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information. January.*
- Sims, N., & Kasprzyk-Hordern, B. (2020). Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environment International*, 139, 105689. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>
- Solanet, M. A. (2020). *Pandemia: los desafíos múltiples que en el presente le plantea al porvenir. January.*
- Templeton, M. R., Andrews, R. C., & Hofmann, R. (2005). Inactivation of particle-associated viral surrogates by ultraviolet light. *Water Research*, 39(15), 3487-3500. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.06.010>
- Thompson, J. R., Nancharaiyah, Y. V, Gu, X., Lee, W. L., Rajal, V. B., Haines, M. B., Girones, R., Ng, L. C., Alm, E. J., & Wuertz, S. (2020). Making waves: Wastewater surveillance of SARS-CoV-2 for population-based health management. *Water Research*, 184, 116181. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116181>
- Troncoso, A., Cueto, O. A., Rivera, J. H., & Herrera, J. R. (2020). *Un breve análisis de la mortalidad del Covid-19 en países de América Latina A brief analysis of Covid-19 mortality in Latin American countries.* 2(1), 1-7.
- van Doorn, A. S., Meijer, B., Frampton, C. M. A., Barclay, M. L., & de Boer, N. K. H. (2020). Systematic review with meta-analysis: SARS-CoV-2 stool testing and the potential for faecal-oral transmission. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 52(8), 1276-1288. <https://doi.org/10.1111/apt.16036>

- Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., Wang, B., Xiang, H., Cheng, Z., Xiong, Y., Zhao, Y., Li, Y., Wang, X., & Peng, Z. (2020). Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 323(11), 1061-1069. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585>
- Wang, J., Feng, H., Zhang, S., Ni, Z., Ni, L., Chen, Y., Zhuo, L., Zhong, Z., & Qu, T. (2020). SARS-CoV-2 RNA detection of hospital isolation wards hygiene monitoring during the Coronavirus Disease 2019 outbreak in a Chinese hospital. *International Journal of Infectious Diseases*, 94(January 2019), 103-106. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.024>
- Westhaus, S., Weber, F.-A., Schiwy, S., Linnemann, V., Brinkmann, M., Widera, M., Greve, C., Janke, A., Hollert, H., Wintgens, T., & Ciesek, S. (2021). Detection of SARS-CoV-2 in raw and treated wastewater in Germany – Suitability for COVID-19 surveillance and potential transmission risks. *Science of The Total Environment*, 751, 141750. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141750>
- Wu, Y., Guo, C., Tang, L., Hong, Z., Zhou, J., Dong, X., Yin, H., Xiao, Q., Tang, Y., Qu, X., Kuang, L., Fang, X., Mishra, N., Lu, J., Shan, H., Jiang, G., & Huang, X. (2020). Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 5(5), 434-435. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2)
- Wurtzer, S., Marechal, V., Mouchel, J. M., Maday, Y., Teyssou, R., Richard, E., Almayrac, J. L., & Moulin, L. (2020). Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>
- Wurtzer, Sebastien, Marechal, V., Mouchel, J.-M., Maday, Y., Teyssou, R., Richard, E., Almayrac, J. L., & Moulin, L. (2020). Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv*, 2020.04.12.20062679. <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>
- Yeo, C., Kaushal, S., & Yeo, D. (2020). Enteric involvement of coronaviruses: is faecal–oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 5(4), 335-337. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30048-0](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30048-0)

- Zanetti, F., De Luca, G., & Sacchetti, R. (2006). Microbe removal in secondary effluent by filtration. *Annals of Microbiology*, 56(4), 313. <https://doi.org/10.1007/BF03175023>
- Zhang, D., Ling, H., Huang, X., Li, J., Li, W., Yi, C., Zhang, T., Jiang, Y., He, Y., Deng, S., Zhang, X., Wang, X., Liu, Y., Li, G., & Qu, J. (2020). Potential spreading risks and disinfection challenges of medical wastewater by the presence of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) viral RNA in septic tanks of Fangcang Hospital. *Science of The Total Environment*, 741, 140445. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140445>
- Zhang, D., Yang, Y., Huang, X., Jiang, J., Li, M., Zhang, X., Ling, H., Li, J., Liu, Y., Li, G., Li, W., Yi, C., Zhang, T., Jiang, Y., Xiong, Y., He, Z., Wang, X., Deng, S., Zhao, P., & Qu, J. (2020). SARS-CoV-2 spillover into hospital outdoor environments. *medRxiv*, 2020.05.12.20097105. <https://doi.org/10.1101/2020.05.12.20097105>
- Zhao, S., Lin, Q., Ran, J., Musa, S. S., Yang, G., Wang, W., Lou, Y., Gao, D., Yang, L., He, D., & Wang, M. H. (2020). Preliminary estimation of the basic reproduction number of novel coronavirus (2019-nCoV) in China, from 2019 to 2020: A data-driven analysis in the early phase of the outbreak. *International Journal of Infectious Diseases*, 92, 214-217. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.01.050>