1488 – MONITORAMENTO DO SARS-COV-2 NO ESGOTO DA CIDADE DE BELO HORIZONTE

Alyne Duarte Pereira⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Federal de Viçosa - UFV. Doutora em Saneamento pela Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Pesquisadora do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis).

Cássia Cabral e Souza⁽²⁾

Bióloga pela Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG. Doutora em Saneamento pela UFMG. Pesquisadora do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis).

Elayne Cristina Machado⁽³⁾

Bióloga pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais - PUC. Doutora em Saneamento pela UFMG. Pesquisadora do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis).

Lucas Antônio de Oliveira Melgaço⁽⁴⁾

Químico pela Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Doutor em Saneamento pela UFMG. Pesquisador do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis).

César Rossas Mota Filho⁽⁵⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará – UFC. Doutor em Engenharia Civil e Ambiental pela North Carolina State University, EUA). Professor Associado do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Escola de Engenharia, UFMG. Coordenador do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto, da Rede Monitoramento Covid Esgotos e da Rede de Vigilância da Resistência aos Antimicrobianos no Esgoto.

Endereço⁽¹⁾: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 – Pampulha, Belo Horizonte – MG, 31270-901 - e-mail: alyneduartep@gmail.com

RESUMO

Uma série de programas de vigilância baseada no esgoto surgiram ao redor do mundo para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto, tendo em vista a utilidade dos dados gerados para a complementação dos dados epidemiológicos gerados pelo setor saúde. No Brasil, a Rede Monitoramento Covid Esgotos foi criada em fevereiro de 2021, com intuito de monitorar este vírus em seis capitais brasileiras, incluindo Belo Horizonte. Nesta cidade é monitorado o esgoto afluente à duas Estações de Tratamento de Esgotos (ETE Arrudas e ETE Onça), bem como o esgoto de um interceptor localizado em região com elevado índice de vulnerabilidade em saúde, na Sub-bacia do Ribeirão Arrudas. O objetivo deste trabalho foi apresentar os resultados do monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto dos referidos pontos de Belo Horizonte, durante o segundo ciclo do projeto Rede Monitoramento Covid Esgotos, de março de 2022 a fevereiro de 2023. Os resultados demonstraram que a carga de SARS-CoV-2 no esgoto (representada pela soma das cargas afluentes às ETEs Arrudas e Onça) apresentam correlação positiva com o número de casos (suspeitos e confirmados) de COVID-19 reportados para Belo Horizonte. A carga viral no esgoto tende a aumentar algumas semanas antes em relação ao aumento do número de casos de COVID-19 na cidade, o que pode servir como alerta para eventuais períodos de agravamento da situação no município. As concentrações de SARS-CoV-2 no esgoto do interceptor localizado em região de elevada vulnerabilidade em saúde, na sub-bacia do Ribeirão Arrudas, de maneira geral, seguiu a mesma tendência de aumento ou redução, em relação às ETEs monitoradas, especialmente, quando comparadas às concentrações obtidas para a ETE Arrudas. As experiências e lições aprendidas a partir do monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte e de outras capitais brasileiras, no âmbito do projeto Rede Monitoramento Covid Esgotos, poderão nortear a criação de outros programas de vigilância ambiental do vírus SARS-CoV-2 e de outros patógenos de interesse.

PALAVRAS-CHAVE: SARS-COV-2, Coronavírus, Monitoramento, Epidemiologia Baseada no Esgoto, Rede Monitoramento Covid Esgotos.

INTRODUÇÃO

A detecção do material genético do vírus SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, no esgoto de diversos países do mundo colocou novamente em evidência a Epidemiologia Baseada no Esgoto (EBE) (Chernicharo *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020; La Rosa *et al.*, 2020; Medema *et al.*, 2020; Nemudryi *et al.*, 2020; Randazzo *et al.*, 2020). Esta ferramenta vem sendo utilizada há décadas para o monitoramento de patógenos, como o poliovírus, informando sobre a circulação deste vírus e sobre a erradicação da poliomielite em diversos países (Ashgar *et al.*, 2014). Mais recentemente, a EBE começou a ser utilizada para a vigilância do SARS-CoV-2, fornecendo alertas sobre a circulação deste vírus em determinadas comunidades, gerando informações sobre tendências temporais e espaciais da circulação do vírus e complementando dados clínicos sobre a COVID-19.

A partir de 2020, uma série de programas de vigilância do SARS-CoV-2 no esgoto foi criada ao redor do mundo, a exemplo do sistema de vigilância coordenado pelo *Centers for Prevention and Control of Diseases* (CDC), nos Estados Unidos, denominado *National Wastewater Surveillance System* (NWSS), que reúne iniciativas independentes locais no país para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto, transformando-as em um programa robusto de vigilância baseada no esgoto (CDC, 2023). Dentre as iniciativas europeias, destaca-se o programa de vigilância da Holanda, que surgiu como um projeto piloto logo após a primeira detecção do SARS-CoV-2 no esgoto (que ocorreu na ETE que atende o aeroporto de *Schiphol*, próximo a Amsterdã) e que alguns meses depois já havia incluído todas as ETEs do país (mais de 300) em seu plano de monitoramento (RIVM, 2023).

No Brasil, logo após a declaração da situação de pandemia pelo Organização Mundial de Saúde (OMS), em abril de 2020, um programa para monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto das cidades de Belo Horizonte e de parte de Contagem foi iniciado. Este programa foi coordenado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis) em parceria com a Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA), com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Após um ano de sua execução, com contribuição significativa para o mapeamento da ocorrência do SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte e de parte de Contagem, este programa de monitoramento foi ampliado, por meio da construção da Rede Monitoramento COVID Esgotos.

O projeto em rede, contemplou o monitoramento do esgoto de mais cinco capitais brasileiras, além de Belo Horizonte, quais sejam: Brasília (DF), Curitiba (PR), Fortaleza (CE), Recife (PE) e Rio de Janeiro (RJ). São monitorados, no âmbito deste projeto, o esgoto afluente às principais Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) de cada uma destas capitais, bem como locais com grande circulação de pessoas, bairros com elevados índices de vulnerabilidade social e canais pluviais que recebem contribuição de esgoto, a depender da capital monitorada.

As informações geradas a partir do esgoto têm contribuído para complementar os dados de vigilância epidemiológica e tem auxiliado os gestores da área da saúde nas tomadas de decisão para a prevenção e o controle da disseminação da COVID-19. Além disso, as experiências e lições aprendidas no âmbito deste projeto têm contribuído para nortear a elaboração de outros Programas baseados na Epidemiologia Baseada no Esgoto, expandindo o monitoramento para outros patógenos de interesse.

Este trabalho tem como objetivo apresentar os resultados do monitoramento do esgoto na cidade de Belo Horizonte, durante o segundo ciclo do projeto Rede Monitoramento COVID Esgotos, de março de 2022 a fevereiro de 2023, nas duas principais estações de tratamento de esgotos (ETEs) da cidade e em um ponto localizado em área de elevada vulnerabilidade social desta capital, avaliando a evolução temporal dos dados obtidos a partir do esgoto, juntamente com dados de saúde.

MATERIAIS E MÉTODOS

A Rede Monitoramento COVID Esgotos

A Rede Monitoramento Covid Esgotos tem como instituições de referência, as universidades federais localizadas nas capitais Belo Horizonte (MG), Curitiba (PR), Fortaleza (CE), Recife (PE), Rio de Janeiro (RJ) e no Distrito Federal. A Rede também conta com instituições parceiras, dentre elas, concessionárias de saneamento locais e secretarias de saúde. Em Belo Horizonte, o monitoramento é coordenado pela

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) por meio do INCT ETEs Sustentáveis e conta com a parceria da Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA) (Figura 1). Cada cidade monitorada possui uma particularidade no que tange à infraestrutura sanitária, o que torna a elaboração de um plano único de monitoramento para o SARS-CoV-2 no esgoto inviável e impõe desafios para a construção de planos regionalizados, dentro de cada realidade e respeitando as características locais.

Belo Horizonte possui dois sistemas de esgotamento sanitário principais inseridos nas bacias hidrográficas dos ribeirões Arrudas e Onça, os quais incluem todas as regionais de Belo Horizonte e parte do município de Contagem. O índice de atendimento total de esgotamento sanitário de Belo Horizonte é de 74% (SNIS, 2023). As duas principais estações de tratamentos de esgotos, ETE Arrudas e ETE Onça, juntas, recebem os esgotos de cerca de 2.250.000 habitantes das cidades de Belo Horizonte e Contagem.

Figura 1 – Instituição de Referência (IR) e Instituições Parceiras (IP) da Rede Monitoramento Covid Esgotos em Belo Horizonte.

Pontos de amostragem e coleta das amostras

O esgoto afluente às duas principais ETEs de Belo Horizonte (ETE Arrudas e ETE Onça) foi contemplado no Plano de Monitoramento desta cidade. Também foi monitorado o esgoto do interceptor Córrego Cardoso, que intercepta o esgoto de uma área de elevada vulnerabilidade em saúde de Belo Horizonte (na região dos bairros Vila Cafezal, Paraíso e Santa Efigênia).

As coletas foram realizadas com apoio da COPASA. Nas ETEs, foi realizada coleta composta de 24 horas, por meio de amostrador automático, que coletava 400 mL a cada intervalo de 10 minutos, perfazendo um volume total de 2,4 L para cada hora de operação. No esgoto do Interceptor Córrego Cardoso, as coletas também eram realizadas com amostrador automático, porém, a amostragem tinha duração de 4 horas. As amostras eram mantidas sob refrigeração durante os períodos de amostragem e transporte até o laboratório, por meio de placas de gelo. As amostras foram transferidas até o Laboratório de Microbiologia do Departamento de

Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) para a realização das análises laboratoriais.

Análises Laboratoriais

O protocolo para detecção e quantificação do SARS-CoV-2 pelo método da reação em cadeia da polimerase em tempo real com transcrição reversa (RT-qPCR), que serviu como referência para as análises em todas as cidades integrantes da Rede, foi desenvolvido pelo núcleo de Belo Horizonte durante o Projeto Piloto – Detecção e quantificação do novo coronavírus em amostras de esgoto nas cidades de Belo Horizonte e Contagem. O protocolo foi baseado na metodologia do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC, 2019), utilizado originalmente para análise de amostras clínicas e adaptado para amostras de esgoto.

As análises laboratoriais para detecção e quantificação do SARS-CoV-2 consistiam em três etapas, descritas a seguir:

- (i) Concentração das partículas virais a partir da amostra de esgoto: a concentração foi realizada por meio de método de adsorção-eluição em membranas eletronegativas (de 0,45 µm de poro), adaptado de Katayama *et al.* (2002) e Symonds *et al.* (2014). Neste método, não se realiza a eluição dos vírus retidos na membrana, mas faz-se a extração do material genético diretamente da membrana, usando kit comercial para extração de ácidos nucleicos virais.
- (ii) Extração do material genético viral: a extração do RNA foi realizada seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante do kit *AllPrep PowerViral DNA/RNA* (Qiagen®, Hilden, Alemanha). Ao final de cada extração, o RNA foi eluído em 100µL de água ultrapura. Em seguida, o RNA total da amostra foi quantificado usando o *NanoDrop™ Lite Spectrophotometer* (ThermoFisher Scientific, Califórnia, Estados Unidos). Ao final da extração, as amostras eram congeladas a -80°C até a quantificação por RT-qPCR.
- (iii) Detecção e quantificação do SARS-CoV-2 por RT-qPCR: A detecção do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto foi realizada pela técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real com transcrição reversa (RT-qPCR). Os *primers* e sondas (oligonucleotídeos marcados com fluorescência) para a detecção do SARS-CoV-2 foram selecionados a partir de regiões do gene do Nucleocapsídeo (N) do vírus, mas especificamente para região denominada N1 (Tabela 1). O princípio da técnica consiste na transcrição reversa do RNA isolado das amostras de esgoto para cDNA e posterior amplificação do material genético no equipamento de PCR em Tempo Real. Para avaliar a recuperação do RNA e integridade do reagente de extração, em todas as análises foi incluído o controle interno da reação com RNase P (material celular humano cultivado não infeccioso). Os controles utilizados na reação de RT-qPCR também são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Primers, Sondas e controles utilizados na detecção e quantificação do SARS-CoV-2 por RT-qPCR

	N1	RP
Primer/ Sonda (Sequência)	2019-nCoV_N1-F2019-nCoV_N1 (GACCCAAAATCAGCGAAAT)	RP-F_RNaseP_Forward (AGATTTGGACCTGCGAGCG)
	2019-nCoV_N1-R2019-nCoV_N1 (TCTGGTTACTGCCAGTTGAATCTG)	RP-R_RNaseP_Reverse (GAGCGGCTGTCTCCACAAGT)
	2019-nCoV_N1-P2019-nCoV_N1 (ACCCCGCATTACGTTTGGTGGACC)	RP-P_RNaseP_Probe (TTCTGACCTGAAGGCTCTGCGCG)
Controle	2019-nCoV_N_Positive Control (IDT)	Hs_RPP30 Positive Control (IDT)
Sonda	Itaq Universal Sondas One Step Kit (Biorad)	Itaq Universal Sondas One Step Kit (Biorad)

As curvas padrão foram preparadas com o controle positivo 2019-nCoV_N para o alvo N1 e consistiam em diluições seriadas da alíquota de trabalho do controle positivo diluído. Para as reações da PCR em Tempo Real utilizou-se o *MasterMix Itaq Universal Probes One Step Kit* (Biorad). O volume final de cada reação era de 20 µL (incluindo master mix, *primers*, transcriptase reversa e amostra). As reações foram realizadas em triplicata, tanto para as amostras, quanto para os controles negativos e diluições da curva padrão. O programa de amplificação consistia em uma etapa inicial de incubação para transcrição reversa (RT) a 50 °C por 10 minutos, seguida de uma etapa de ativação da enzima a 95 °C por 2 minutos e 45 ciclos de etapas de: (i) desnaturação a 95 °C por 3 segundos, seguido por amplificação a 55 °C por 30 segundos.

Dados epidemiológicos e assistenciais

Os dados do número de casos suspeitos e confirmados de COVID-19, dados de população vacinada contra COVID-19 e número de óbitos por COVID-19 foram obtidos a partir dos Boletins Epidemiológicos emitidos pela Prefeitura Municipal de Belo Horizonte (PBH, 2023).

Análise dos dados

As concentrações virais obtidas a partir da análise de RT-qPCR (em cópias de RNA viral/ mL) foram transformados em carga multiplicando a concentração obtida pela vazão afluente de esgoto a cada ETE. A carga total de SARS-CoV-2 para Belo Horizonte foi obtida pela soma das cargas afluentes a cada ETE. As cargas foram normalizadas, dividindo pela população estimada da cidade de Belo Horizonte (2.530.701 habitantes, de acordo com o IBGE) e multiplicadas por 10 mil habitantes. As cargas de SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte são apresentadas graficamente juntamente com o número de novos casos de COVID-19 ao longo do tempo, número de novos óbitos confirmados em função da doença por semana e dados do percentual da população vacinada. A fim de avaliar a correlação entre a carga de SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte e o número de novos casos de COVID-19 (Suspeitos e confirmados) ao longo do tempo, o coeficiente de correlação de Spearman foi calculado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Evolução temporal das cargas de SARS-CoV-2 no esgoto e do número de casos de COVID-19

Os resultados do monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto afluente às ETEs monitoradas, juntamente com o número de novos casos suspeitos e confirmados de COVID-19 são apresentados na Figura 2.

Figura 2 – Evolução temporal das cargas de SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte e do número de novos casos de COVID-19.

Entre março de 2022 e fevereiro de 2023 foram identificados dois picos nas cargas de SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte. O primeiro ocorreu em maio de 2022, na semana epidemiológica (SE) 21 (24/05/2022), com valor igual a 707 bilhões de cópias do RNA viral por dia para cada 10 mil habitantes, sendo que as cargas virais permaneceram elevadas durante todo o mês de junho até o início de julho. O segundo pico ocorreu na SE 48, em 29 de novembro de 2022. Nesta semana a carga de SARS-CoV-2 no esgoto atingiu o maior valor de todo o período de monitoramento, alcançando 802 bilhões de cópias do RNA viral por dia para cada 10 mil habitantes.

habitantes. Após a redução nas cargas de SARS-CoV-2 no esgoto em janeiro de 2023, as cargas mantiveram-se baixas até o final de fevereiro deste ano.

Durante este período de monitoramento, o número de novos casos de COVID-19 (suspeitos e confirmados) seguiram a mesma tendência de aumento ou redução das cargas de SARS-CoV-2 no esgoto. Foi identificada correlação positiva e significativa entre a carga de SARS-CoV-2 no esgoto e o número de novos casos suspeitos de COVID-19 ($\rho=0,28$; $p<0,05$) e correlação positiva, porém não significativa, entre a carga de SARS-CoV-2 no esgoto e o número de casos confirmados de COVID-19 ($\rho=0,21$; $p>0,05$). Cabe ressaltar que, em geral, o número de novos casos confirmados de COVID-19 é reportado mais tardiamente, em relação ao número de novos casos suspeitos, devido ao tempo necessário para a realização dos testes utilizados para a confirmação da doença e comunicação dos dados às autoridades de saúde. Poucos trabalhos identificaram correlações fortes entre as concentrações de SARS-CoV-2 e casos clínicos de COVID-19. Como exemplo, é possível citar o trabalho pioneiro de Medema *et al.* (2020), em que foram observadas fortes correlações entre estas variáveis no esgoto de uma cidade da Holanda nos estágios iniciais da pandemia de COVID-19. Correlações positivas entre as concentrações de SARS-CoV-2 no esgoto e o número de casos de COVID-19 tem sido reportado também em outros estudos realizados no Brasil, na região do ABC, em Foz do Iguaçu, Goiânia e no Distrito Federal. Nestas localidades foram identificados coeficientes de correlação de Spearman variando entre 0,41 e 0,63, demonstrando, portanto, que os dados clínicos de número de casos de COVID-19 têm aumentado e/ou reduzido concomitantemente às concentrações de SARS-CoV-2 encontradas no esgoto, o que corrobora para confirmar o potencial das informações contidas no esgoto para a vigilância epidemiológica da COVID-19 (Bueno *et al.*, 2022).

Os resultados obtidos em Belo Horizonte mostraram que as cargas de SARS-CoV-2 no esgoto podem servir de alerta, informando sobre possível agravamento da situação, uma vez que o aumento das cargas virais no esgoto tende a ocorrer antes do aumento do número de casos de COVID-19.

No monitoramento realizado nas ETEs de Belo Horizonte, entre março de 2022 e fevereiro de 2023, isso pôde ser observado em dois períodos; (i) Em maio (SE 21 – 24/05/2022), houve um aumento considerável das cargas de SARS-CoV-2 no esgoto das ETEs monitoradas e algumas semanas em seguida (2-3 semanas), foi identificado o pico do número de casos de COVID-19 na cidade; e (ii) da mesma forma, outro pico na carga de SARS-CoV-2 no esgoto foi identificado no final de novembro de 2022, na SE 48 (29/11/2022) com aumento concomitante do número de novos casos de COVID-19 atingindo novo pico em meados de dezembro (após 3 semanas). Cabe ressaltar que o aumento do número de casos de COVID-19 identificado em março de 2022 foi precedido pelo aumento da carga viral no esgoto no final de janeiro deste mesmo ano (dados não apresentados).

Evolução das cargas de SARS-CoV-2 e do número de óbitos por COVID-19

O número de novos óbitos acumulados em uma semana (Figura 3) oscilou ao longo do período de monitoramento apresentado, mas foi possível observar aumento desses eventos após o incremento das cargas no esgoto (após os picos nas cargas de SARS-CoV-2 no esgoto na SE 21 – 24/05/2022 e na SE 48 – 29/11/2022). De maneira geral, houve tendência de queda no número de novos óbitos ao longo do ano de 2022 e início de 2023, mesmo em períodos em que foram identificadas elevadas cargas de SARS-CoV-2 no esgoto, como após o pico identificado em novembro de 2022. Cabe ressaltar que, a partir de outubro de 2022 mais de 73% da população de Belo Horizonte estava vacinada com a terceira dose de alguma das vacinas disponíveis contra a COVID-19 e cerca de 20% da população já havia recebido a quarta dose (PBH, 2023).

Figura 3 – Evolução das cargas de SARS-CoV-2 no esgoto, do número de óbitos semanais por COVID-19 e percentagem da população vacinada

Monitoramento regionalizado do SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte

Em grandes cidades como Belo Horizonte, com grande heterogeneidade em termos demográficos, econômicos e sociais, é importante que, além do monitoramento do SARS-CoV-2 centralizado nas grandes estações de tratamento de esgotos, seja realizado também o monitoramento de maneira regionalizada, a fim de direcionar os recursos para aquelas regiões mais vulneráveis, que sofrem os maiores impactos da pandemia. Desde o início do projeto piloto para o monitoramento do SARS-CoV-2 em Belo Horizonte, o monitoramento regionalizado tem sido considerado no plano de amostragem desta cidade, com vistas a identificar as diferenças na circulação do vírus, especialmente nas regiões com indicadores de vulnerabilidade mais críticos. No referido projeto piloto, iniciado em 2020, foram monitorados, além das ETEs, quinze interceptores de esgoto em diferentes regiões da cidade, com diferentes índices de vulnerabilidade social. Com base nos dados obtidos a partir do esgoto, de maio a agosto de 2020, foi possível observar que as regiões de Belo Horizonte com menores índices de vulnerabilidade social foram as mais afetadas pela pandemia (Mota *et al.*, 2021).

Uma das regiões mais vulneráveis de Belo Horizonte, identificadas durante o projeto piloto foi selecionada para monitoramento no âmbito do Projeto Rede Monitoramento Covid Esgotos. O esgoto da referida região é coletado no interceptor Córrego Cardoso, ponto que recebe contribuição de cerca de 18 mil habitantes e está localizado na sub-bacia do Ribeirão Arrudas. Na Figura 4 é apresentada a evolução temporal das concentrações de SARS-CoV-2 neste ponto em comparação com as concentrações obtidas para o esgoto afluente às ETEs Arrudas e Onça.

Figura 4 – Monitoramento regionalizado da concentração de SARS-CoV-2 esgoto no interceptor Córrego Cardoso – Sub-bacia do Ribeirão Arrudas e no esgoto afluente às ETEs Arrudas e Onça

Embora possa ser observada uma dinâmica diferente nas concentrações de SARS-CoV-2 no esgoto do interceptor Córrego Cardoso é possível dizer que as concentrações neste ponto da sub-bacia do Ribeirão Arrudas seguiram as mesmas tendências das concentrações obtidas para as ETEs Arrudas e Onça (especialmente quando comparado à ETE Arrudas) durante o período monitorado. Cabe mencionar que as concentrações virais durante os períodos de pico foram superiores no esgoto do interceptor, em detrimento do esgoto afluente às ETEs.

Desafios e perspectivas para a implementação de programas de vigilância baseada no esgoto

A importância da epidemiologia baseada no esgoto (EBE) como ferramenta complementar de vigilância epidemiológica para a saúde pública ficou em evidência com a pandemia de COVID-19 e o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto em diversos países do mundo, incluindo o Brasil. As experiências e lições aprendidas com o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto de cidades brasileiras, como Belo Horizonte, e com as Redes de Monitoramento deste patógeno, como a Rede Monitoramento Covid Esgotos, podem agora ser incorporadas no delineamento de outros programas de vigilância com base no esgoto, para a ampliação da vigilância do SARS-CoV-2 voltada para um período pós-pandêmico, e de outros patógenos de interesse para a saúde pública.

As dimensões continentais do Brasil, as particularidades de cada região, e ainda, os déficits elevados em esgotamento sanitário existentes no país se configuram em um desafio para a implementação de programas de vigilância baseada no esgoto. Para a escolha dos pontos de monitoramento em cada cidade, é necessário considerar, pontos de amostragem para além das ETEs. A depender da necessidade e viabilidade, a amostragem do esgoto pode ser expandida para pontos nas redes coletoras, estações elevatórias de esgoto (EEE), interceptores de esgoto, canais de água pluvial e corpos d'água que recebam contribuição de esgoto de modo a se tornar mais representativa da localidade a ser monitorada. Para o planejamento do monitoramento e execução das coletas é imprescindível a colaboração dos Prestadores de Serviços de Saneamento Locais. Outro desafio a ser superado é a disponibilidade de infraestrutura laboratorial para análise dos micro-organismos alvo do monitoramento. Por fim, cabe mencionar sobre os desafios relacionados à comunicação dos resultados gerados a partir dos esgotos. Por se tratar de uma abordagem de vigilância relativamente recente, as autoridades de saúde podem não estar familiarizadas com os dados. Dessa forma, é importante que os dados sejam traduzidos e transformados em informações úteis a serem utilizadas pelas autoridades de saúde. Além disso, deve haver agilidade entre as etapas de geração e a comunicação dos dados, de modo que a informação chegue o mais breve possível nos gestores responsáveis pelas tomadas de decisão para garantir ações de prevenção e controle das doenças monitoradas, em tempo hábil.

Postos os desafios, ressaltam-se as potencialidades da epidemiologia baseada no esgoto (EBE) para a geração de informações relevantes sobre a circulação de diversos micro-organismos infecciosos e posterior implementação de planos de ação para prevenção e controle de doenças. Como exemplo, é possível citar a utilização da EBE para orientar políticas de saúde pública visando a erradicação da poliomielite e fornecer alertas sobre a ocorrência de surtos desta doença (Kilaru et al., 2021, Ashgar et al., 2014). Também há relatos na literatura sobre a detecção no esgoto de arbovírus, como os causadores da dengue, febre amarela e o Zika vírus, o que sugere a possibilidade de utilização da epidemiologia baseada no esgoto para auxiliar na vigilância epidemiológica de arboviroses (Chandra et al., 2021; Muirhead et al., 2020). Recentemente, a vigilância epidemiológica baseada no esgoto foi proposta como uma abordagem mais econômica para obter informações sobre as características e distribuição de bactérias resistentes aos antimicrobianos e genes de resistência, em escala nacional e até mesmo global (Blaak et al., 2021; Hendriksen et al., 2019; Aarestrup & Woolhouse, 2020). Nesse sentido, a Rede Monitoramento Covid Esgotos tem contribuído com sua experiência para a elaboração de uma ampla rede para o monitoramento da resistência aos antimicrobianos, que está em processo de estruturação e em breve iniciará suas atividades de monitoramento, gerando informações que poderão contribuir para a redução da disseminação da resistência aos antimicrobianos.

CONCLUSÕES

Os dados do monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto se mostraram capazes de antecipar em algumas semanas o incremento do número de casos de COVID-19 e do número de óbitos por esta doença. Isso pode servir como um alerta, auxiliando os gestores da área da saúde com informações que podem ser utilizadas, juntamente com os dados epidemiológicos nas tomadas de decisão visando a prevenção e o controle da pandemia de COVID-19.

O monitoramento regionalizado do SARS-CoV-2 nos esgotos em diferentes regiões da cidade pode trazer informações relevantes para o combate à pandemia de Covid-19, especialmente em grandes e heterogêneos centros urbanos, como Belo Horizonte. Monitorar o esgoto de pequenas sub-bacias, pode trazer informações importantes sobre a distribuição espacial e prevalência regional do vírus, informação que não é possível obter quando o monitoramento é realizado apenas nas grandes estações de tratamento de esgotos da cidade.

As experiências e lições aprendidas a partir do monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte e de outras capitais brasileiras, no âmbito do projeto Rede Monitoramento Covid Esgotos, poderão nortear a criação de outros programas de vigilância ambiental do vírus SARS-CoV-2 e de outros patógenos, com intuito de monitorar tendências geográficas e temporais da circulação de agentes patogênicos e fornecer alertas precoces para as autoridades de saúde, de modo a possibilitar ações de prevenção e controle de doenças infecciosas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro realizado pelas instituições: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (CNPq); Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG); e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis). Os autores também agradecem ao apoio logístico nas coletas e amostragens realizado pela Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA) e pela Secretaria de Saúde do Estado de Minas Gerais (SES-MG).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aarestrup, F. M., Woolhouse, M. E. J. Using sewage for surveillance of antimicrobial resistance. *Science*, 367 (6478), 630-632, 2020.
2. Ashgar, H., Diop, M. D., Weldegebriel, G., Malik, F., Shetty, S., El Bassioni, L., Akande, A., Al Maamoun, E., Zaidi, S., Adeniji, A. J., Burns, C. C., Deshpande, J., Oberste, J. S., Lowther, S. A. Environmental Surveillance for Polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 210 (S1), p. 294-303, 2014. DOI: 10.1093/infdis/jiu384.
3. Blaak, H., Kemper, M. A., Man, H., van Leuken, J. P. G., Schivejven, J. F., van Passel, W. J., Schmitt, H., Husman, A. M. R. Nationwide surveillance reveals frequent detection of carbapenemase-producing Enterobacterales in Dutch municipal wastewater. *Science of the Total Environment*, v. 77 (145925), p. 1-11, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.145925.

4. Bueno, R. F., Claro, I. C. M., Augusto, M. R., Duran, A. F. A., Camillo, L. M. B., Cabral, A. D., Sodré, F. F., Brandão, C. C., Vizzotto, C., Silveira, R., Mendes, G. M., Arruda, A. F., Brito, N. N., Machado, B. A. S., Duarte, G. R. M., Aguiar-Oliveira, L. M. Wastewater-based epidemiology: A Brazilian SARS-CoV-2 surveillance experience. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10: 108298, 2022.
5. CDC. Center for Disease Control and Prevention. Novel coronavirus (2019-nCoV) Real-time RT-PCR panel primers and probes. 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>. Acesso em 20 de janeiro de 2023.
6. CDC. Center for Disease Control and Prevention. National Wastewater Surveillance System (NWSS). 2023. Disponível em: <https://www.cdc.gov/healthywater/surveillance/wastewater-surveillance/wastewater-surveillance.html>. Acesso em 20 de janeiro de 2023.
7. Chandra, F., Lee, W.L., Armas, F., Leifels, M., Gu, X., Chen, H., Wuertz, S., Alm, E.J., Thompson, J. Persistence of Dengue (Serotypes 2 and 3), Zika, Yellow Fever, and Murine Hepatitis Virus RNA in Untreated Wastewater. *Environmental Science and Technology Letters*, 8, 785-791, 2021.
8. Chernicharo, C. A. L., Araújo, J. C., Mota Filho, C. R., Bressani-Ribeiro, T., Chamhum-Silva, L. A., Leal, C. D., Leroy, D., Machado, E., Cordero, M. F. E., Azevedo, L. S., Fernandes, L., Leão, T., Laguartia, F., Reis, M. T. P., Melo, M. C., Ayrimoraes, S. R. Monitoramento do esgoto como ferramenta de vigilância epidemiológica para controle da COVID-19: Estudo de caso na cidade de Belo Horizonte. *Engenharia Sanitária e Ambiental*. Edição especial Covid-19, p.1-12, 2020.
9. Hendriksen, R., Munk, P., Njage1, P., van Bunnik, B., McNally, L., Lukjancenko, O., Röder, T., Nieuwenhuijse, D., Pedersen, S.K., Kjeldgaard, J., Kaas, R.S., Clausen, P.T.L.C., Vogt, J.K., Leekitcharoenphon, P., van de Schans, M.G.M., Zuidema, T., Husman, A.M.R., Rasmussen, S., Petersen, B., Amid, C., Cochrane, G., Sicheritz-Ponten, T., Schmitt, H., Alvarez, J. R. M., Aidara-Kane, A., Pamp, S. J., Lund, L., Hald, T., Woolhouse, M., Koopmans, M. P., Vigre, H., Petersen, T. N., Aarestrup, F. M. Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage. *Nature Communications*, 10, 1124, 2019. DOI: 10.1038/s41467-019-08853-3.
10. Katayama, H., Shimasaki, A., Ohgaki, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1033–1039, 2002. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.3.1033-1039.2002>.
11. Kilaru, P., Hill, D. H., Andreson, K. A., Collins, M. B., Green, H., Kmush, B. L., Larsen, D. A. Wastewater surveillance for infectious disease: a systematic review. *MedRxiv*, 2021. DOI: 10.1101/2021.07.26.21261155.
12. Kumar, M., Patel, A.K., Shah V. A., Raval, J., Rajpara, N., Joshi, M., Joshi, C.G. First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARS-CoV-2. *Sci. Total Environ.* 746, 141326, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141326.
13. La Rosa, G., Iaconelli, M., Mancini, P., Bonanno Ferraro, G., Veneri, C., Bonadonna, L., Lucentini, L., Suffredini, E. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci. Total Environ.* 736:139652, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652.
14. Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ. Sci. Technol. Lett.*, 2020. DOI: 10.1021/acs.estlett.0c00357.
15. Mota, C. R., Bressani-Ribeiro, T., Araújo, J. C., Leal, C. D., Leroy-Freitas, D., Machado, E. C., Espinosa, M. F., Fernandes, L., Leão, T. L., Chamhum-Silva, L. Azevedo, L., Morandi, T., Freitas, G. T., Costa, M. S., Carvalho, B. O., Reis, M. C. T., Melo, M. C., Ayrimoraes, S. R., Chernicharo, C. A. L. Assessing spatial distribution of COVID-19 prevalence in Brazil using decentralised sewage monitoring. *Water Research*, 202, 117388, 2021.
16. Muirhead, A., Zhu, K., Brown, J., Basu, M., Brinton, M.A., Costa, F., Hayat, M.J., Stauber, C.E. Zika Virus RNA Persistence in Sewage. *Environmental Science and Technology Letters*, 7, 659-644, 2020.
17. Nemudryi, A., Nemudraia, A., Surya K., Wiegand T., Buyukyoruk M., Wilkinson, R., Wiedenhelft, B. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. 2020. DOI: 10.1016/j.xcrm.2020.100098.
18. PBH. Prefeitura de Belo Horizonte. Coronavírus. Disponível em: <https://prefeitura.pbh.gov.br/saude/coronavirus>. Acesso em 20 de janeiro de 2023.
19. Randazzo, W., Truchado, P., Cuevas-Ferrando, E., Simón, P., Allende, A., Sánchez, G. 2020. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Res.* 181, 1–8, 2020. DOI: 10.1016/j.watres.2020.115942.
20. RIVM. Committed to health and sustainability. National Institute for Public Health and the Environment. Ministry of Health, Welfare and Sport. Sewage as an indicator of health. 2021. Disponível em: <https://www.rivm.nl/en/covid-19/sewage/indicator-health>. Acesso em 20 de janeiro de 2023.

21. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS). Painel de Saneamento. Disponível em: http://appsnis.mdr.gov.br/indicadores/web/agua_esgoto/mapa-esgoto/. Acesso em 9 de abril de 2023.
22. Symonds, E. M., Verbyla, M. E., Lukasik, J. O., Kafle, R. C., Breitbart, M., Mihelcic, J. R. A case study of enteric virus removal and insights into the associated risk of water reuse for two wastewater treatment pond systems in Bolivia. *Water Res.* 65, 257–270, 2014.