

VII-948 - MONITORAMENTO EPIDEMIOLÓGICO ESPAÇO-TEMPORAL DE SARS-COV-2 NO ESGOTO DE CURITIBA-PR

Carlos Eduardo Rodrigues Barquilha⁽¹⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Mestre e Doutor em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Pesquisador pós-doutorado no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental (PPGERHA/UFPR).

Demian da Silveira Barcellos

Engenheiro Ambiental pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Mestre e Doutor em Gestão Urbana pela mesma universidade, na linha de pesquisa de Gestão e Tecnologias Ambientais. Pesquisador do Departamento de Hidráulica e Saneamento (DHS) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e de pós-doutorado no Programa de Pós-Graduação em Gestão Urbana (PPGTU) da PUCPR.

Ricardo Belmonte-Lopes

Biólogo pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), Doutor em Zoologia pela UFPR. Pesquisador pós-doutorado no Programa de Pós-Graduação Microbiologia, Parasitologia e Patologia (PPGMPP/UFPR).

Jakson Alves

Técnico em Gestão Ambiental pela Faculdades Integradas Camões. Agente Técnico Operacional da Gerência de Pesquisa e Inovação (GPIN) da Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR).

Ramiro Gonçalves Etchepare

Engenheiro Ambiental pela Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Mestre e Doutor em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Professor Adjunto do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Universidade Federal do Paraná (DHS/UFPR).

Endereço⁽¹⁾: Av. Cel. Francisco H. dos Santos, 100 - Jardim das Américas, Curitiba – PR – CEP: 81530-000 - Brasil - Tel: (41) 3361-3210 - e-mail: ce.barquilha@ufpr.br

RESUMO

A pandemia de COVID-19 foi responsável por grandes impactos que não apenas mudaram o cotidiano da população mundial, mas também proporcionou grandes avanços em diferentes áreas da ciência. Alguns fatores como o colapso dos sistemas de saúde em diversos países e o acesso restrito a testes clínicos, especialmente em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, estimularam a busca por ferramentas alternativas que permitiam obter informações em tempo real e em nível de população a respeito da disseminação dos casos de COVID-19, como a epidemiologia baseada nos esgotos. Nesse estudo, a epidemiologia baseada no esgoto foi utilizada como uma ferramenta para o monitoramento espaço-temporal da pandemia de COVID-19 em Curitiba-PR. Os resultados obtidos sugerem que a presente ferramenta permite realizar um efetivo acompanhamento espacial dos casos de COVID-19 utilizando a rede de esgotamento sanitário, indicando que a região da ETE-03 pode ser uma região de alta vulnerabilidade. Contudo, destaca-se a característica mais concentrada do esgoto nessa região, o que pode ser atribuído a uma rede menor e mais íntegra. Além disso, os resultados evidenciam uma alta correlação entre as informações obtidas a partir do esgoto e diversos indicadores clínicos, incluindo os casos de COVID-19, o número de testes realizados e a positividade dos testes. Desta forma, o aumento na carga de RNA viral nos esgotos não está apenas associado ao maior número de novos casos de COVID-19, mas também à maior busca por teste e uma maior taxa de testes positivos.

PALAVRAS-CHAVE: Pandemia, COVID-19, Informações em Tempo Real, Monitoramento Espacial.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a epidemiologia baseada nos esgotos (Wastewater-based Epidemiology, WBE) foi aplicada em pesquisas epidemiológicas e perspectivas políticas para prover informações sobre o uso de tabaco, álcool,

drogas ilícitas e produtos farmacêuticos controlados. Entretanto, a pandemia de COVID-19 renovou o interesse por essa ferramenta a fim de obter informações em tempo real e em nível de população utilizando a rede de esgotamento sanitário (ERICKSON et al., 2021).

Causada por um novo tipo de coronavírus (SARS-CoV-2) e responsável por uma síndrome respiratória aguda grave, a pandemia de COVID-19 impôs grandes desafios para toda população mundial. A rápida disseminação dos casos de COVID-19 foi responsável pelo colapso de sistemas de saúde em diversos países, incluindo o Brasil. Assim, diversas ferramentas epidemiológicas foram extensivamente investigadas e aplicadas para complementar informações e dar suporte a processos de tomada decisão pelo setor de saúde pública, incluindo a WBE. Neste sentido, uma vez que traços do RNA viral do SARS-CoV-2 estão presente em excreções humanas, a WBE foi implementada e consolidada em diversas cidades ao redor do mundo (AGRAWAL et al., 2021; CARRILLO-REYES; BARRAGÁN-TRINIDAD; BUITRÓN, 2021; CLARO et al., 2021; MOTA et al., 2021; WEIDHAAS et al., 2021).

No Brasil, o monitoramento de COVID-19 nos esgotos em Curitiba começou em março de 2021 a partir de um monitoramento piloto realizado em Belo Horizonte-MG, que deu origem a Rede Monitoramento COVID Esgotos (etes-sustentaveis.org/rede-monitoramento-covid-esgotos/), composta por instituições de seis diferentes capitais de estado (Curitiba, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, Brasília, Recife e Fortaleza). Curitiba é a capital do estado do Paraná e a maior cidade do sul do Brasil, com aproximadamente 1.948.626 habitantes. O município possui uma das maiores coberturas de saneamento básico do país, sendo aproximadamente 96% do município atendido com coleta e tratamento de esgoto (SNIS, 2021). A partir do sistema de esgotamento sanitário, o município pode ser dividido em cinco macrorregiões atendidas por cinco diferentes Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), que também recebem o esgoto sanitário gerado em parte dos municípios da região metropolitana de Curitiba (RMC). A divisão do município em macrorregiões permite que a disseminação de COVID-19 seja monitorada a partir dos esgotos do ponto de vista espacial e temporal.

O objetivo deste estudo foi apresentar a distribuição espaço-temporal da concentração do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos de Curitiba ao longo de 22 meses de monitoramento, entre março de 2021 e dezembro de 2022.

MATERIAIS E MÉTODOS

Pontos de amostragem, período e frequência

Os pontos de amostragem foram as entradas das ETEs em Curitiba, onde as amostras de esgoto bruto foram coletadas conforme procedimento padronizado pela Rede Covid Esgotos na Nota Técnica nº 01 (Monitoramento Covid Esgotos, 2020). As amostragens nas ETEs foram realizadas semanalmente no período da manhã e de forma composta no período das 08h00 às 12h00, totalizando quatro horas de amostragem e utilizando dispositivos automáticos. Durante e após o período de amostragem, as amostras foram mantidas refrigeradas a 4 °C e transportadas para os laboratórios do Departamento de Hidráulica e Saneamento e do Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná (UFPR) para as análises de parâmetros físico-químicos e extração e quantificação do RNA do SARS-CoV-2, respectivamente.

Extração e quantificação do SARS-CoV-2

A extração e quantificação do RNA viral foi realizada conforme metodologia descrita por Mota et al. (2021), a qual foi adaptada de Symonds et al. (2014) e de Ahmed et al. (2015). O método de extração consistiu na filtração de uma alíquota das amostras através de uma membrana eletronegativa com porosidade de 0,45 µm utilizando um sistema de filtração à vácuo. Posteriormente, o material genético retido na membrana foi extraído utilizando o kit de extração AllPrep PowerViral DNA/RNA (Qiagen Inc.), conforme instruções recomendadas pelo fabricante. Após a extração, a quantificação do RNA viral foi realizada utilizando o teste US-CDC (2019) para o marcador N1 e um marcador de RNase P para controle em RT-qPCR (Quantstudio 5 real-time PCR, Applied Biosystems). A curva de calibração do marcador N1 foi construída utilizando o plasmídeo IDT 2019-nCoV_N. A concentração de RNA do vírus SARS-CoV-2 no esgoto (C_{esgoto} , cópias/mL) foi, portanto, obtida conforme a Equação 1:

$$C_{esgoto} = X \cdot \frac{v_2}{v_1} \quad \text{equação (1)}$$

onde X é a concentração viral na solução de extração; V_1 é o volume de esgoto filtrado até saturação da membrana; e V_2 é o volume da solução de extração.

Compilação dos dados clínicos

Os dados clínicos sobre a pandemia de COVID-19 em Curitiba-PR foram obtidos do Painel COVID-19 Curitiba (<https://coronavirus.curitiba.pr.gov.br/>), divulgado pela Secretaria Municipal da Saúde. As informações utilizadas foram: novos casos diários, casos ativos, número de leitos hospitalares ocupados e níveis de isolamento social.

RESULTADOS OBTIDOS

Visão geral da pandemia de COVID-19 em Curitiba-PR

No início do monitoramento (março de 2021), foram reportados aproximadamente 33 mil novos casos por mês, com uma diminuição gradual até dezembro de 2021. Contudo, em janeiro de 2022 os novos casos de COVID-19 aumentaram abruptamente, diminuindo progressivamente até abril de 2022. Tal comportamento foi observado também em outros dois momentos do mesmo ano. A Figura 1 mostra o número de testes realizados, os novos casos reportados e a positividade dos testes, isto é, a quantidade de testes positivos com relação ao número total de testes realizados mensalmente entre março de 2021 e dezembro de 2022.

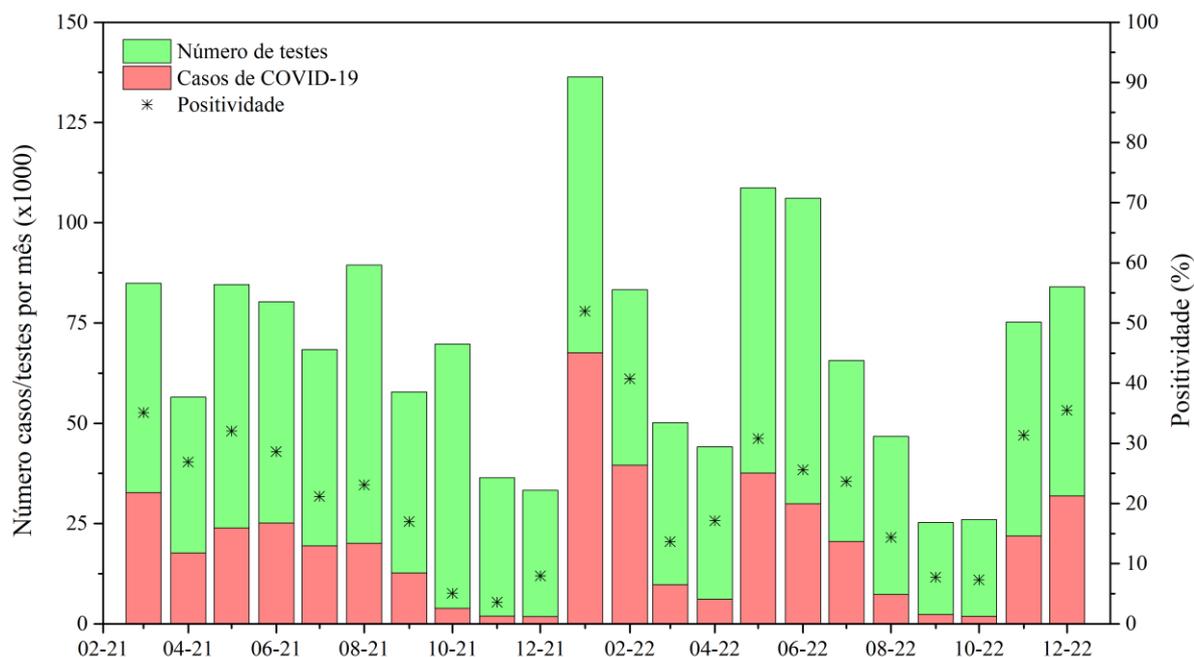


Figura 1: Compilado mensal do total de testes realizados, do número de casos reportados e da positividade dos testes conforme reportado pela Secretaria Municipal da Saúde de Curitiba-PR.

Distribuição espaço-temporal da concentração viral nos esgotos

As análises qualitativas da distribuição espaço-temporal da concentração de RNA viral nos esgotos foram conduzidas utilizando mapas de calor, que tinham o objetivo de reportar informações periodicamente. As escalas dos mapas seguiram um padrão utilizado na Rede Monitoramento Covid Esgoto, incluindo as faixas: (i) não detectado, quando o material genético do vírus não foi encontrado nas amostras; (ii) baixa, quando as concentrações virais estavam entre 1 e 4.000 cópias por litro; (iii) moderada, entre 4.001 e 25.000 cópias por litro; e (iv) alta, superiores a 25.000 cópias por litro. Assim, a distribuição espaço-temporal da concentração viral nos esgotos em Curitiba durante todo o período de monitoramento é apresentada na Figura 2. As características das macrorregiões, incluindo as áreas de contribuição no município de Curitiba, estimativas da

população contribuinte, concentrações de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) no esgoto, vazões de esgoto afluente às ETEs e soma das concentrações de RNA viral, foram sumarizadas na Tabela 1.

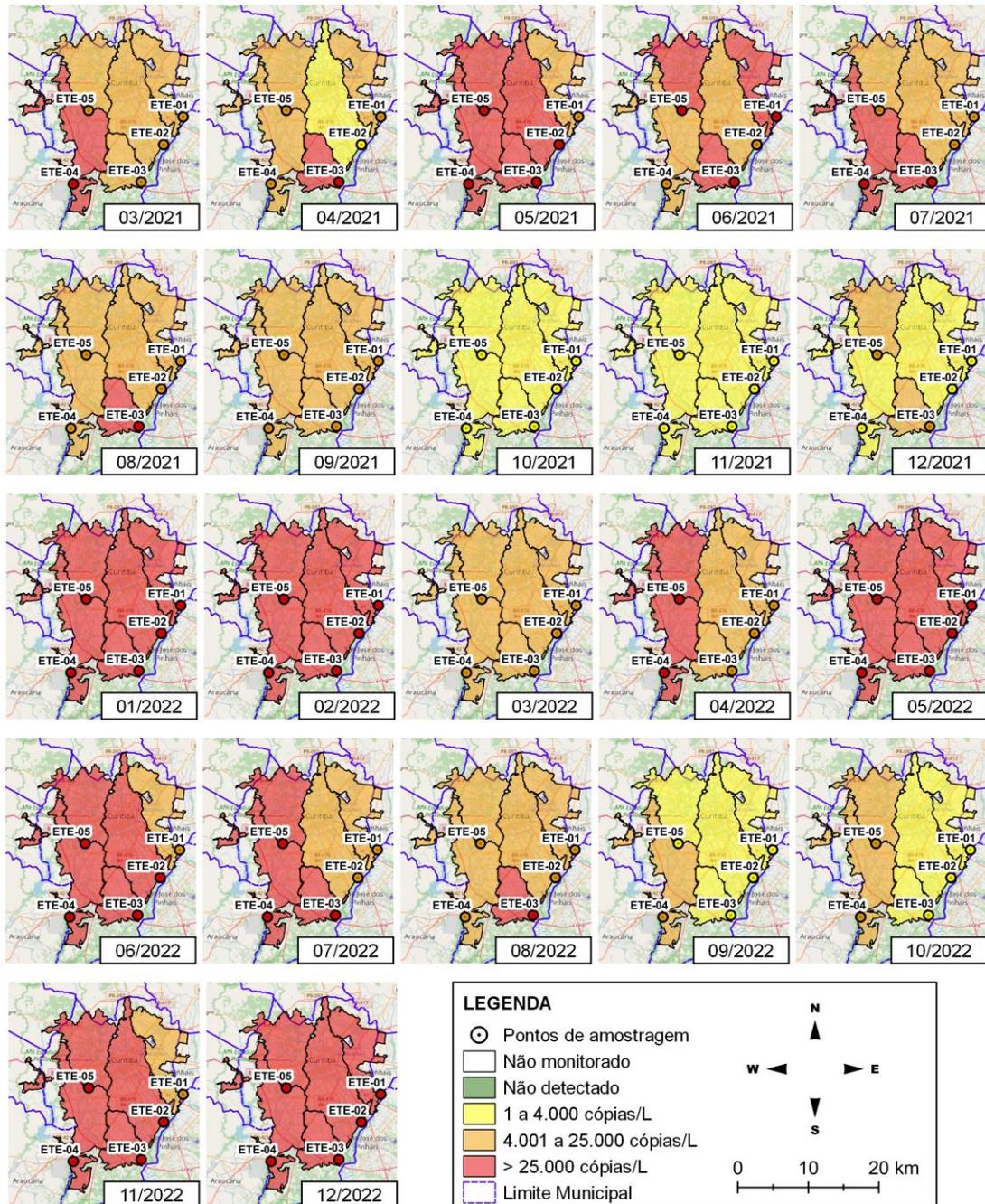


Figura 2: Distribuição espaço-temporal das concentrações mensais médias de RNA viral nos esgotos afluentes às ETEs de Curitiba-PR.

Tabela 1: Abrangência das ETEs e parâmetros físico-químicos dos esgotos em Curitiba-PR.

Pontos	Área ^a (km ²)	População (10 ³)	N-NH ₃ ^c (mg/L)	Vazão ^c (L/s)	∑ conc. viral (10 ⁶ cópias/L)
ETE-01	50,75	205 (970) ^b	45±15 (11–71)	1285±327 (572–1821)	1,74
ETE-02	95,95	387 (923) ^b	47±15 (17–94)	1218±213 (718–2083)	1,90
ETE-03	35,89	286	85±26 (16–154)	335±98 (165–586)	5,55
ETE-04	80,44	322 (481) ^b	58±19 (16–95)	575±151 (345–942)	3,13
ETE-05	62,13	277	48±14 (14–78)	490±55 (400–652)	3,46

^a Considerando somente a área de cobertura em Curitiba-PR.

^b População contribuindo total, incluindo RMC.

^c Valores de concentração média, desvio padrão, mínima e máxima.

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados indicaram que maio e junho foram os meses com as maiores concentrações de RNA viral em 2021, enquanto janeiro, fevereiro, maio e dezembro foram os mais críticos em 2022. Por outro lado, outubro e novembro de 2021 foram os meses com as menores concentrações em todo o período de monitoramento. Tais resultados estão coerentes com os dados clínicos obtidos a partir do Painel COVID-19 Curitiba (Figura 3). Observa-se que as concentrações de RNA viral no esgoto estão diretamente associadas a maior procura por testes ($R = 0,830$) e ao número de casos de COVID-19 reportados ($R = 0,897$). Além disso, a positividade dos testes também aumentou quando as concentrações virais no esgoto foram maiores ($R = 0,859$), em que pese tais correlações poderiam ter sido negativamente influenciadas por fatores como os casos assintomáticos e sintomas brandos com baixa procura por testes, bem como pelo uso de autoteste.

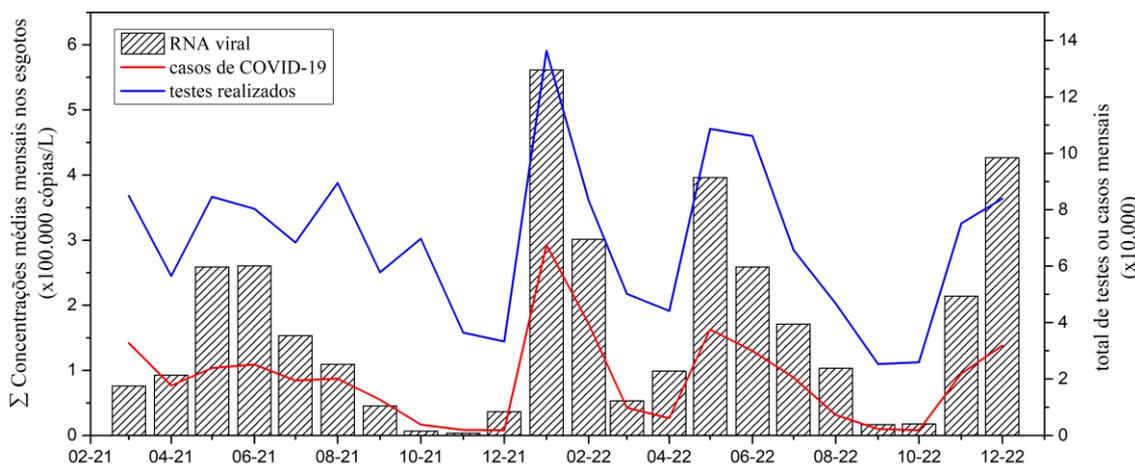


Figura 3: Relação entre a soma das concentração médias mensais de RNA viral nos esgotos afluentes às ETEs e os dados clínicos reportados pela Secretaria Municipal da Saúde de Curitiba-PR.

Somando todas as concentrações de RNA viral por região, a ETE-03 apresentou a maior concentração, sugerindo ser uma região com alta vulnerabilidade. Contudo, pondera-se que é importante levar em consideração as particularidades das ETEs, como a área de contribuição e integridade da rede de esgotamento sanitário. De acordo com a população atendida e as vazões afluentes, as duas maiores ETEs de Curitiba são as ETEs 01 e 02. Entretanto, as contribuições de Curitiba correspondem apenas à cerca de 20% e 40% do esgoto afluente a essas ETEs, respectivamente. O restante do esgoto é proveniente da RMC. Por outro lado, a ETE-03 é a menor ETE do município, atende exclusivamente Curitiba e apresenta a menor área de contribuição.

Neste sentido, os resultados sugerem que o esgoto afluente à ETE-03 possui característica mais concentrada em relação às demais, conforme concentrações elevadas de N-NH₃ (Tabela 1), o que pode ser atribuído a uma rede de esgotamento mais recente e íntegra. Além disso, a região ETE-03 possui a menor área de contribuição, o que diminui o tempo de residência do esgoto na rede. Por outro lado, as redes de esgotamento das ETES 01 e 02 são muito extensas, principalmente por incluírem municípios da RMC, o que pode resultar na degradação parcial do material genético e, conseqüentemente, na menor concentração de RNA viral afluente, apesar do grande adensamento populacional dessas regiões. A degradação do material genético em redes de esgotamento é reportada como um fator de influência que requer avaliação cuidadosa em trabalhos de WBE (WADE et al., 2022).

CONCLUSÕES

A análise qualitativa utilizando mapas de calor foi uma importante ferramenta para identificar a distribuição espaço-temporal da concentração de RNA do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos de Curitiba-PR, tendo indicado áreas críticas com elevado número de pessoas infectadas pela COVID-19. A divulgação semanal dos mapas de calor contendo informações facilmente interpretável pela população pode contribuir para ampliar o conhecimento desta acerca da pandemia, bem como poderia ser utilizada pelos tomadores de decisão no planejamento de ações de combate a disseminação do vírus SARS-CoV-2 de forma regionalizada. Entretanto, diversos fatores podem influenciar a análise e interpretação dos resultados da concentração viral, como o tamanho da rede, sua integridade e fatores externos, como a diluição de águas pluviais em períodos chuvosos. Portanto, é fundamental o acompanhamento de parâmetros físico-químicos do esgoto, como a vazão e o nitrogênio amoniacal, para melhor compreensão dos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGRAWAL, S. et al. A pan-European study of SARS-CoV-2 variants in wastewater under the EU Sewage Sentinel System. **medRxiv**, p. 2021.06.11.21258756, 2021.
2. AHMED, W. et al. Comparison of Concentration Methods for Quantitative Detection of Sewage-Associated Viral Markers in Environmental Waters. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 6, p. 2042–2049, 15 mar. 2015.
3. CARRILLO-REYES, J.; BARRAGÁN-TRINIDAD, M.; BUITRÓN, G. Surveillance of SARS-CoV-2 in sewage and wastewater treatment plants in Mexico. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, n. November 2020, p. 101815, abr. 2021.
4. CDC-EUA.. Novel coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR panel primers and probes. 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>
5. CLARO, I. C. M. et al. Long-term monitoring of SARS-COV-2 RNA in wastewater in Brazil: A more responsive and economical approach. **Water Research**, v. 203, n. August, p. 117534, set. 2021.
6. ERICKSON, T. B. et al. “Waste Not, Want Not” — Leveraging Sewer Systems and Wastewater-Based Epidemiology for Drug Use Trends and Pharmaceutical Monitoring. **Journal of Medical Toxicology**, v. 17, n. 4, p. 397–410, 16 out. 2021.
7. MONITORAMENTO COVID ESGOTOS. Nota Técnica nº 01/2020: Contribuição para a elaboração de planos de monitoramento da ocorrência do novo coronavírus no esgoto. 2020. Disponível em: <https://etes-sustentaveis.org>
8. MOTA, C. R. et al. Assessing spatial distribution of COVID-19 prevalence in Brazil using decentralised sewage monitoring. **Water Research**, v. 202, n. December 2020, p. 117388, set. 2021.
9. SNIS - Sistema Nacional de Informação do Saneamento. SNIS - PAINEL DE SANEAMENTO, 2021. Disponível em: <http://appsnis.mdr.gov.br/indicadores>
10. SYMONDS, E. M. et al. 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 Research**, v. 65, p. 257–270, nov. 2014.
11. WADE, M. J. et al. Understanding and managing uncertainty and variability for wastewater monitoring beyond the pandemic: Lessons learned from the United Kingdom national COVID-19 surveillance programmes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, n. August 2021, p. 127456, fev. 2022.
12. WEIDHAAS, J. et al. Correlation of SARS-CoV-2 RNA in wastewater with COVID-19 disease burden in sewersheds. **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145790, jun. 2021.