

Estudio de SARS-COV-2 y Rotavirus en matrices acuáticas del departamento de Salto en pandemia.

Reunión plenaria RLAU
28 de Abril 2023



MSc. Matías Salvo

Departamento del agua
CENUR Litoral Norte, Salto.

Dra. Elena Alvareda
Departamento del agua
CENUR Litoral Norte, Salto.

Dr. Matías Victoria
Laboratorio de Virología Molecular
CENUR Litoral Norte, Salto.

Virología ambiental

- Se encarga de estudiar la presencia, cuantificación y diversidad viral en diferentes matrices ambientales: agua, superficies, alimentos y aire.
- Tiene mucho que ofrecer y proponer para la salud pública: prevención de la transmisión de enfermedades y mantenimiento o restauración de la calidad del medio ambiente.
- Genera conocimiento el cual permite que el ambiente se torne más saludable, aportando a mantener la salud pública, reduciendo los casos de enfermedad causados por microorganismos.

Ejemplo: Erradicación virus polio

POLIO GLOBAL
ERADICATION
INITIATIVE

**Estrategia de
Erradicación de
la Poliomielitis
2022–2026**

**El cumplimiento
de una promesa**



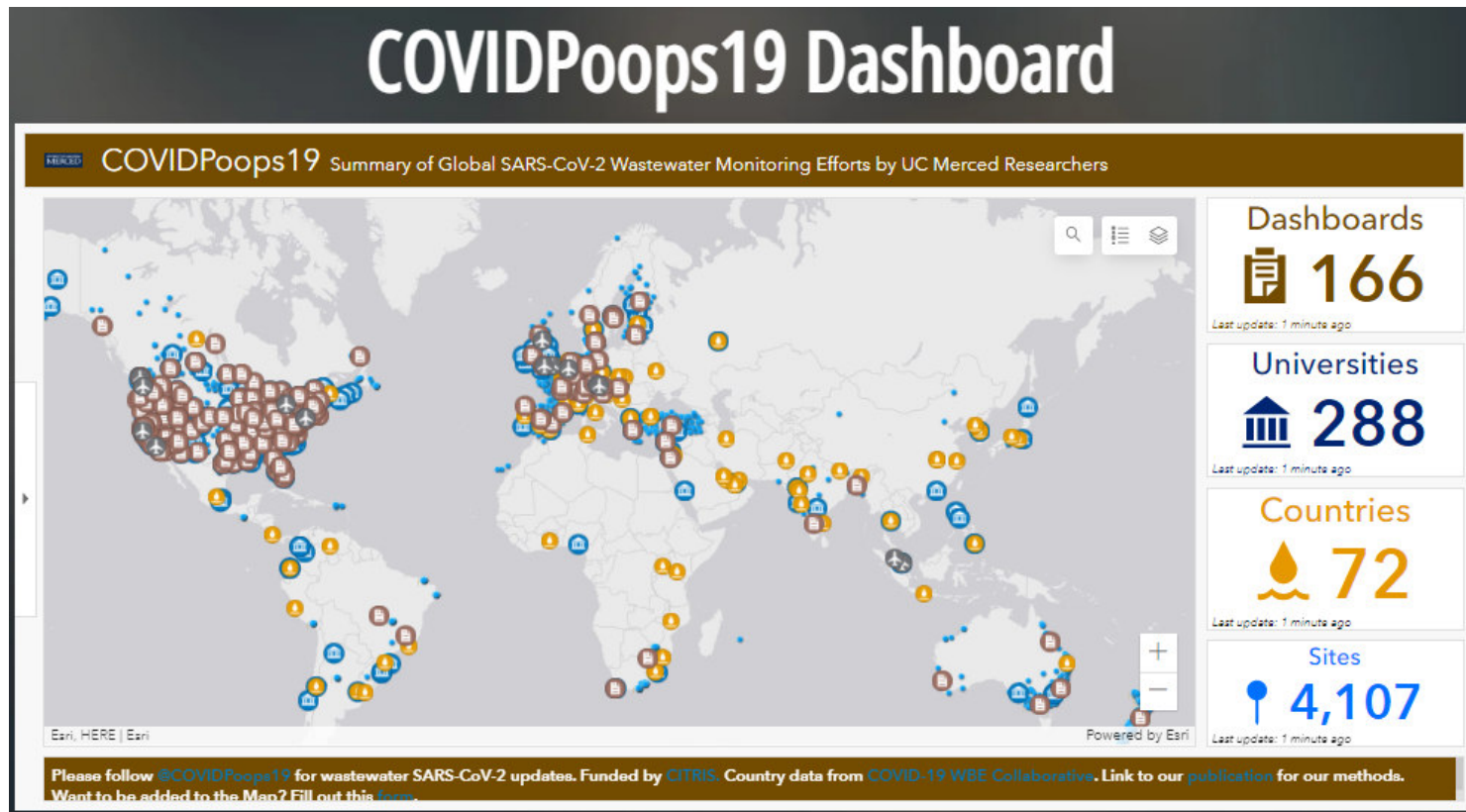
SARS-CoV-2 en aguas residuales

-Desde los primeros casos de COVID-19 hubieron reportes de detección molecular de SARS-CoV-2 en aguas residuales de Holanda, EEUU, Francia y Australia.

-Se han reportado en concentraciones de hasta 10^6 cg/L en aguas residuales sin tratar y 10^5 cg/L en aguas residuales tratadas.

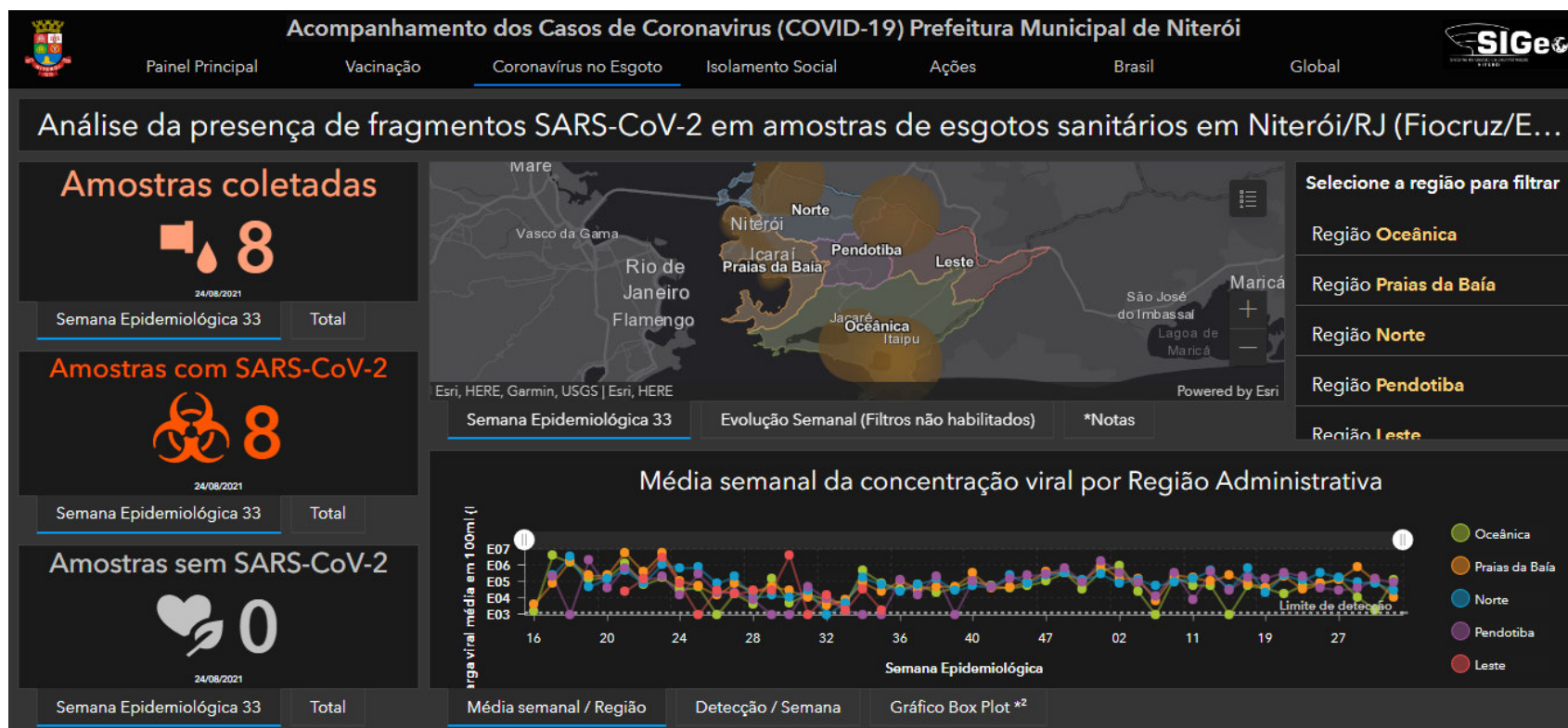
-Monitoreo continuo de SARS-CoV-2 en aguas residuales de múltiples zonas geográficas.

SARS-CoV-2 en aguas residuales



<https://www.covid19wbec.org/covidpoops19>

SARS-CoV-2 en aguas residuales



<https://experience.arcgis.com/experience/305269f3cdd24839b263c5ab346e1aa7> 6

Epidemiología de COVID-19 a través del estudio de aguas residuales.

- WBE: herramienta para rastrear circulación viral en una comunidad, estimar prevalencia, diversidad genética y distribución geográfica.
- Aplicación práctica para identificar virus excretados en heces en una región y comparar entre regiones.
- Observar cambios por intervenciones de salud pública (aislamiento social, lockdown, distanciamiento social).

Métodos para la concentración viral en aguas residuales

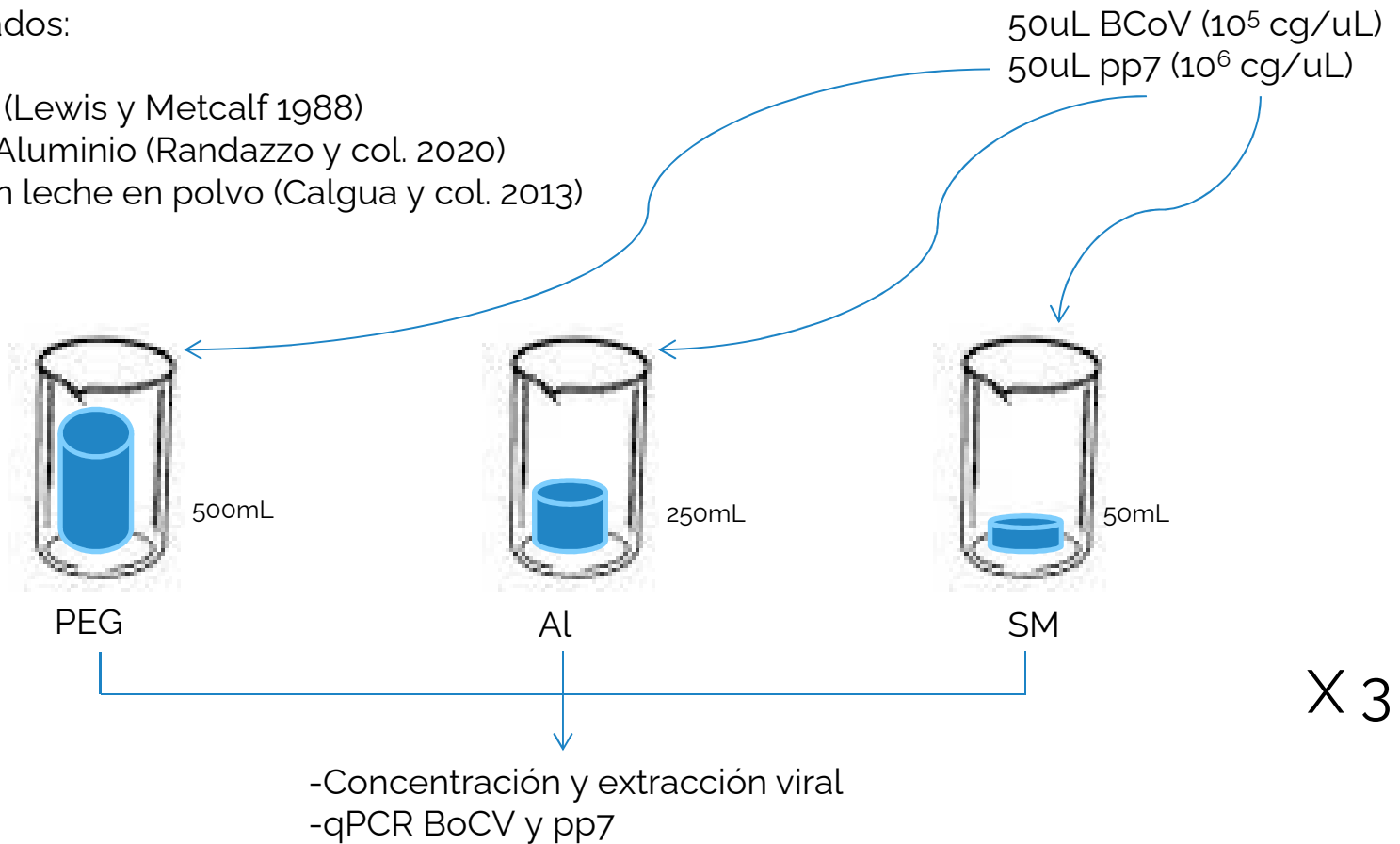
- Numerosos métodos se han desarrollado para la concentración de virus a partir de aguas residuales.
- Membranas electronegativas
- Ultrafiltración
- Ultracentrifugación
- Polietilenglicol
- Floculación por leche en polvo
- Policloruro de aluminio
- Limitado conocimiento respecto a la recuperación de virus envueltos.

Evaluación de métodos de
concentración viral de bajo costo
a partir de aguas residuales.

Evaluación de métodos de concentración

Métodos evaluados:

- Polietilenglicol (Lewis y Metcalf 1988)
- Policloruro de Aluminio (Randazzo y col. 2020)
- Floculación con leche en polvo (Calgua y col. 2013)



Recuperación pp7

Table 1

Percentage of recovery success and recovery efficiency of PP7 in three independent experiments. Each experiment was performed with a different sample in duplicate. 6.2×10^7 , 3.0×10^7 and 6.1×10^7 genomic copies were inoculated in experiment 1, 2 and 3 respectively.

PF7 Recovery efficiency									
PEG precipitation				SM flocculation			Aluminum polychloride flocculation		
	Sample	Concentrated sample [®]	% of recovery	Sample	Concentrated sample [®]	% of recovery	Sample	Concentrated sample [®]	% of recovery
Experiment 1	1a	256,667	0.4	1a	3,833,333	6.2	1a	333	0.0005
	1b	456,667	0.7	1b	510,000	0.8	1b	333	0.0005
	1a 1/10	2,675,000	4.3	1a 1/10	16,400,000	26.5	1a 1/10	6567	0.0106
	1b 1/10	6,975,000	11.3	1b 1/10	17,666,666	28.5	1b 1/10	13,883	0.0224
Experiment 2	2a	9,666,667	16.4	2a	2,150,000	7.3	2a	667	0.0023
	2b	2,916,667	4.9	2b	2,883,333	9.8	2b	1000	0.0034
	2a 1/10	19,833,333	33.6	2a 1/10	1,065,000	3.6	2a 1/10	ND	ND
	2b 1/10	13,416,667	22.7	2b 1/10	813,333	2.8	2b 1/10	5000	0.0169
Experiment 3	3a	3,396,667	5.6	3a	1,901,833	3.1	3a	667	0.0011
	3b	3,874,167	6.4	3b	2,338,333	3.8	3b	1167	0.0019
	3a 1/10	4,083,333	6.7	3a 1/10	13,385,000	22.0	3a 1/10	ND	ND
	3b 1/10	9,600,000	15.8	3b 1/10	10,905,000	17.9	3b 1/10	167	0.0003

	PEG	SM	Al
% Recuperación PP7	5.7	5.2	0.0016
Detección PP7	100% (12/12)	100% (12/12)	83% (10/12)

Recuperación
BCoV

Table 2

Percentage of recovery success and recovery efficiency of BCoV in three independent experiments. Each experiment was performed with a different sample in duplicate. 3.2×10^7 , 1.3×10^7 and 5.7×10^6 genomic copies were inoculated in experiment 1, 2 and 3, respectively.

BCoV Recovery efficiency									
	PEG precipitation			SM flocculation			Aluminum polychloride flocculation		
	Sample	Concentrated sample ^u	% of recovery	Sample	Concentrated sample ^u	% of recovery	Sample	Concentrated sample ^u	% of recovery
Experiment 1	1a	48,333	0.2	1a	1,159,500	3.6	1a	ND	ND
	1b	67,500	0.2	1b	150,167	0.5	1b	500	0.002
	1a 1/10	858,333	2.6	1a 1/10	5,055,000	15.6	1a 1/10	ND	ND
	1b 1/10	1,641,667	5.1	1b 1/10	3,541,667	10.9	1b 1/10	ND	ND
Experiment 2	2a	525,833	4.0	2a	ND	ND	2a	ND	ND
	2b	157,500	1.2	2b	ND	ND	2b	ND	ND
	2a 1/10	891,667	6.7	2a 1/10	ND	ND	2a 1/10	ND	ND
	2b 1/10	558,333	4.2	2b 1/10	ND	ND	2b 1/10	ND	ND
Experiment 3	3a	250,833	4.4	3a	2833	0.05	3a	ND	ND
	3b	235,833	4.1	3b	197,000	3.4	3b	ND	ND
	3a 1/10	400,000	7.0	3a 1/10	3333	0.06	3a 1/10	ND	ND
	3b 1/10	291,667	5.1	3b 1/10	1,051,666	18.4	3b 1/10	ND	ND

	PEG	SM	Al
% Recuperación BCoV	2.4	1.9	NC
Detección BCoV	100% (12/12)	66% (8/12)	8% (1/12)

Evaluación de métodos de concentración

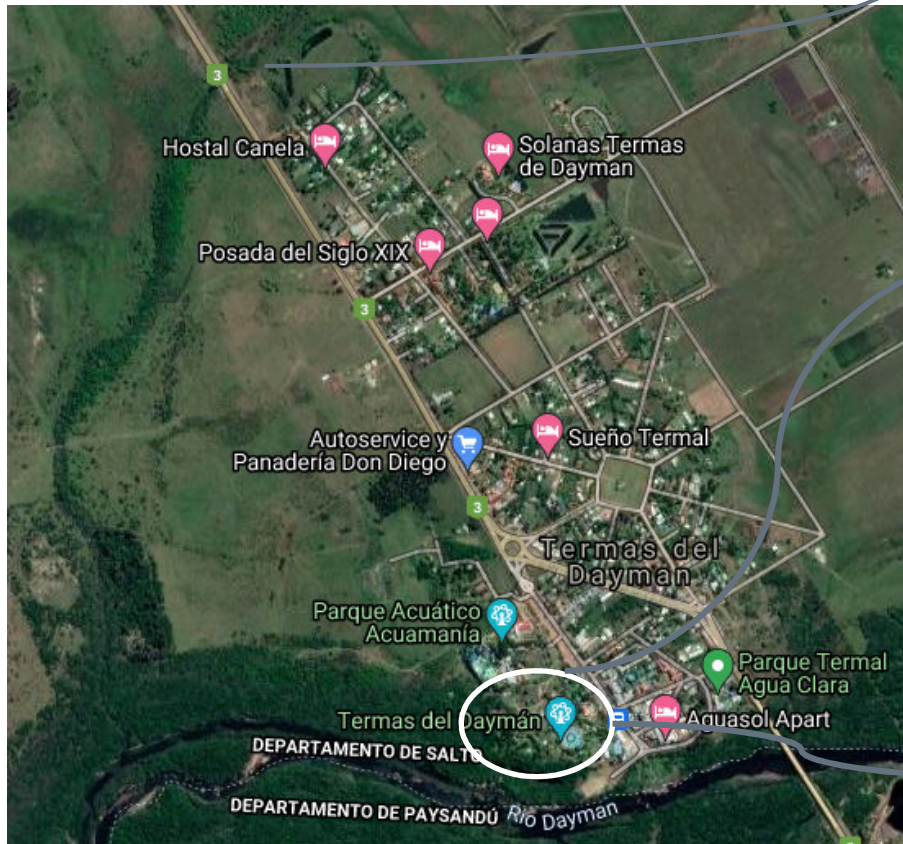
pp7 y BCoV

- PEG método con mejores resultados en cuanto a éxito de recuperación y % de recuperación,
- Mayor sensibilidad respecto a SM.

Monitoreo de SARS-CoV-2 y RV en matrices acuáticas de la zona del parque termal Daymán y la ciudad de Salto.



Sitios de muestreo Daymán



Agua cañada
Doña Jacinta



Agua residual
Daymán



Agua residual
Parque termal



Muestras Daymán

-Período de colecta: 26 de junio de 2020 hasta 5 de julio de 2021

-Colecta:
1 previa a apertura parque
semanales/quincenales/mensuales.

-Total de 104 muestras analizadas.

-Agua residual: 500 mL.

-Agua superficial: 10 L.



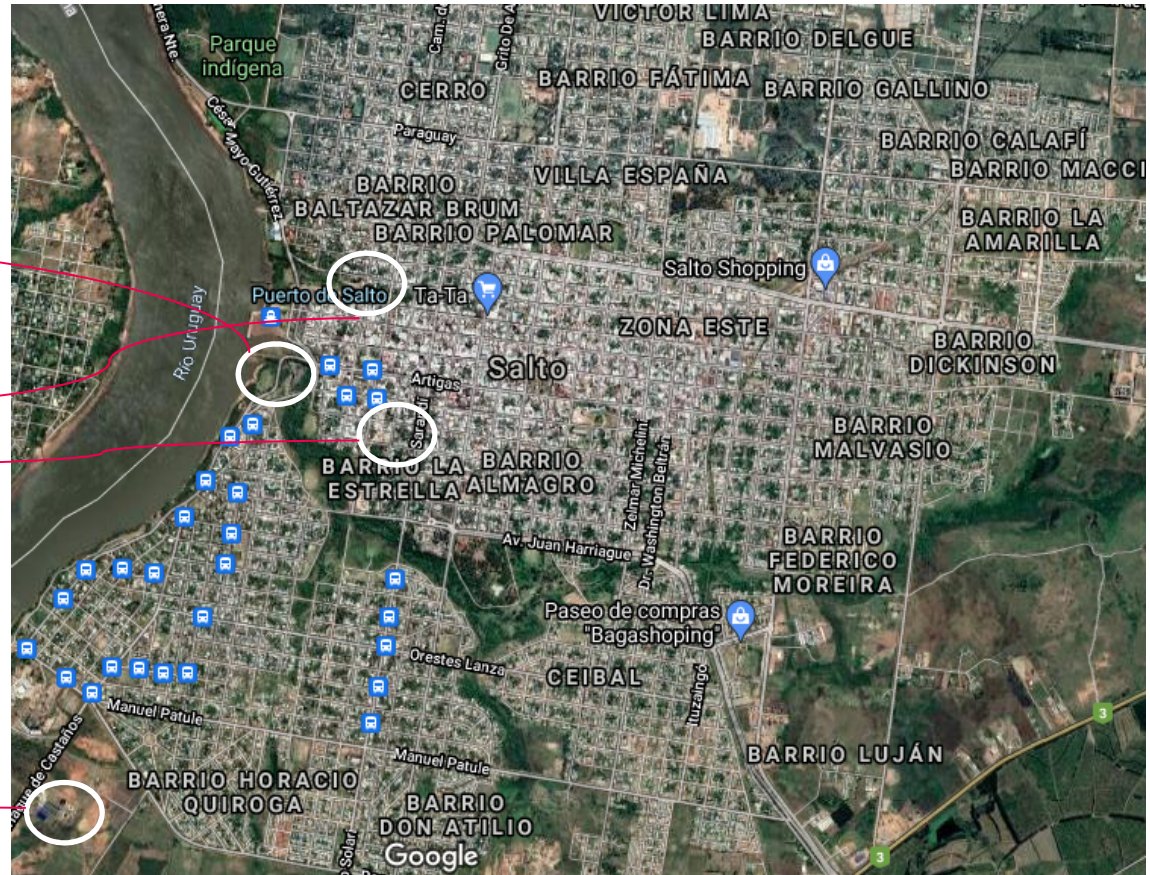
Sitios de muestreo ciudad de Salto

Primeros meses:

- Planta de tratamiento efluentes
- Club de pesca

Luego:

- Estación de bombeo Norte
- Estación de bombeo Sur



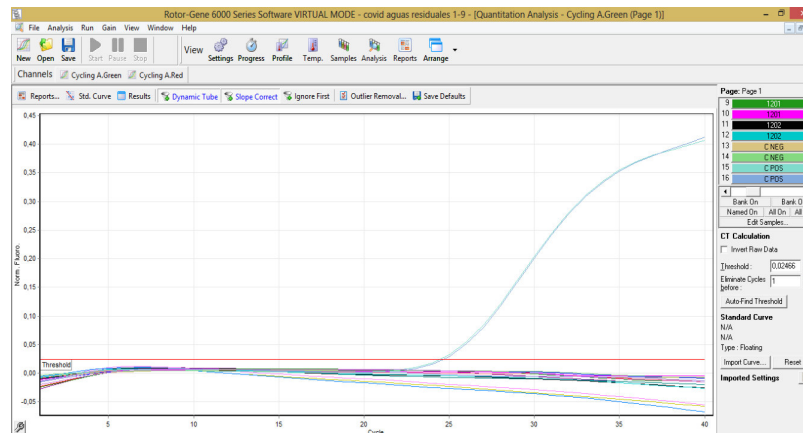
Muestras Salto

- Período de colecta: 2 de julio de 2020 hasta 5 de julio de 2021
- Colecta:
semanales/quincenales/mensuales.
- Total de 60 muestras analizadas.
- Volumen: 500 mL.



Detección/cuantificación: qPCR

- SARS-CoV-2
- RNAsa P
- pp7
- Rotavirus



Resultados PP7

-PP7 amplificó en todas las muestras analizada, a excepción de dos muestras de cañada, posible presencia de inhibidores

Muestra	Media % recuperación
Aguas residuales Salto	23
Aguas residuales Termas	23
Efluentes piscina	6
Cañada	2

Resultados ARNasa P

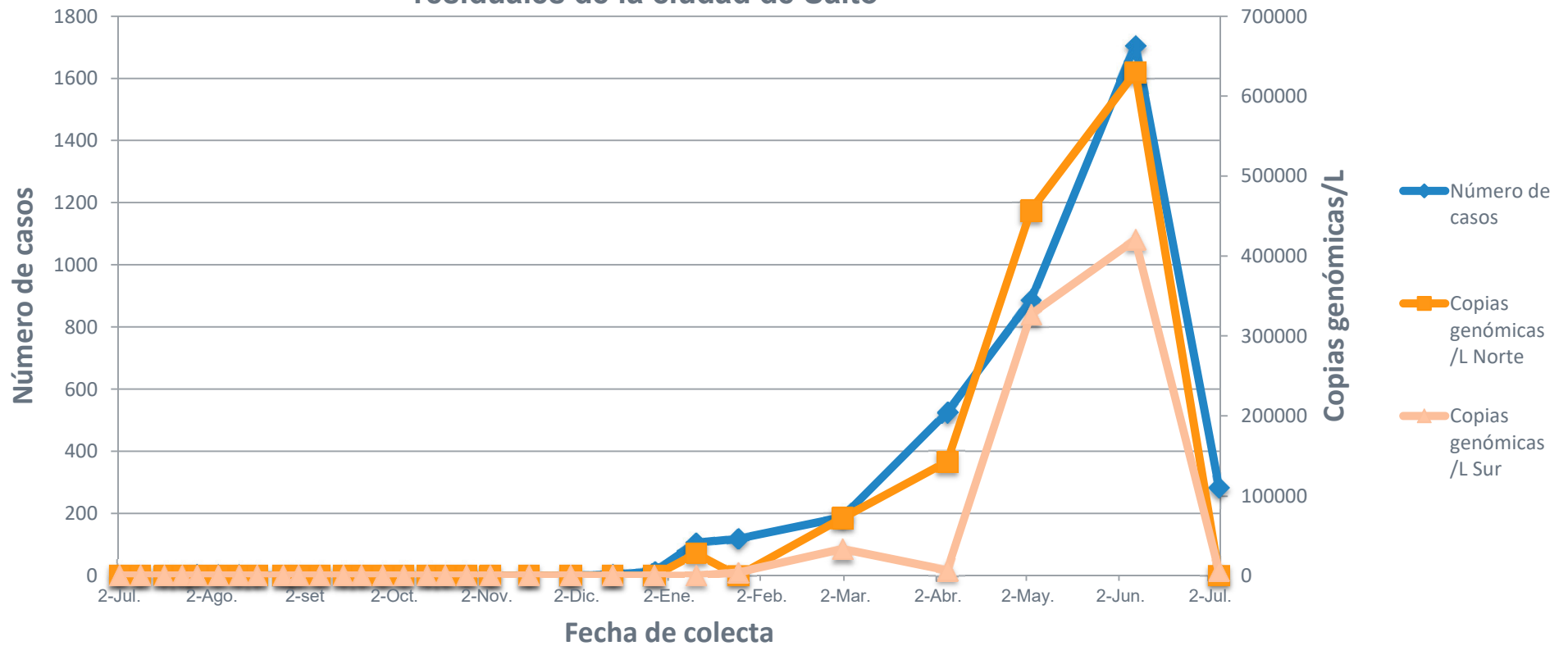
- Aguas residuales Salto: Amplificó en las 60 muestras evaluadas.
- Aguas residuales Termas: Amplificó en 51 de las 52 muestras evaluadas.
- Efluente piscinas: Amplificó en 21 de las 26 muestras evaluadas.
- Cañada: Amplificó en 10 de las 16 muestras evaluadas.

Resultados SARS-CoV-2

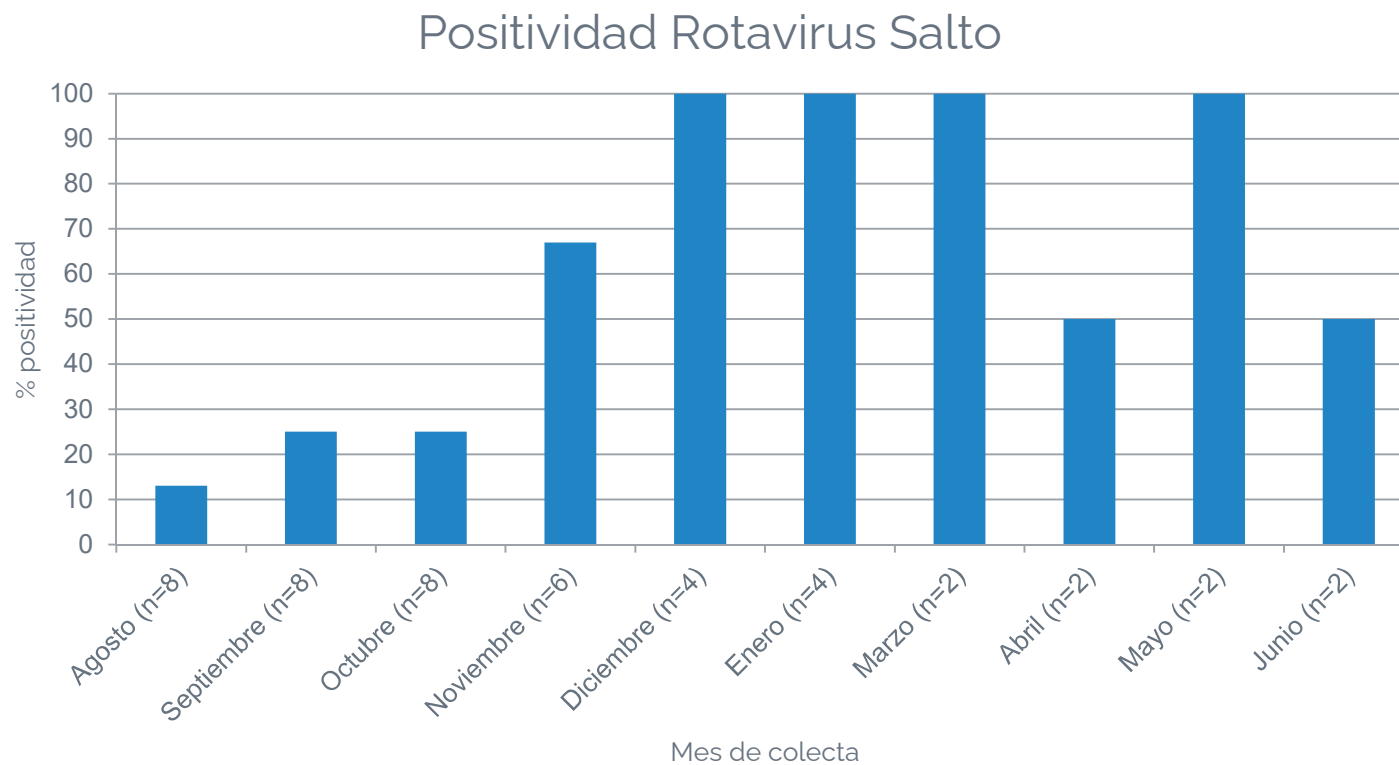
- No se detectó genoma de SARS-CoV-2 en efluentes de piscina, agua residual del parque termal Daymán, agua de cañada Doña Jacinta.
- Tres muestras positivas en aguas residuales de Daymán.

Resultados SARS-CoV-2

Casos de COVID-19 y copias genómicas de SARS-CoV-2 detectadas en aguas residuales de la ciudad de Salto



Resultados Rotavirus



Conclusiones:

- Ir más allá de SARS-CoV-2 y aprender de lo que nos dejó la pandemia.

No es frecuente la determinación clínica a gran escala de la presencia de un virus en la población general, esta situación puntual nos permitió evaluar de forma más fidedigna la utilización de las aguas residuales como indicadores de la circulación de un virus en la población.

- Se observó una clara relación entre el número de casos y las concentración viral en aguas residuales, lo que confirma el **poder de esta herramienta para evaluar de forma indirecta lo que está sucediendo en la población en cuanto a circulación viral.**



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Journal of Virological Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jviromet



Short communication

Evaluation of low-cost viral concentration methods in wastewaters: Implications for SARS-CoV-2 pandemic surveillances

Matías Salvo^{a,b}, Ana Moller^a, Elena Alvareda^b, Pablo Gamazo^b, Rodney Colina^a,
Matías Victoria^{a,*}

^a Laboratory of Molecular Virology, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República, Gral. Rivera 1350, Salto CP: 50.000, Uruguay

^b Water Department, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República, Gral. Rivera 1350, Salto CP: 50.000, Uruguay

Food and Environmental Virology (2022) 14:401–409
<https://doi.org/10.1007/s12560-022-09537-w>

ORIGINAL PAPER



One-Year Surveillance of SARS-CoV-2 and Rotavirus in Water Matrices from a Hot Spring Area

M. Salvo¹ · J. Azambuya² · N. Baccardatz² · A. Moriondo³ · R. Blanco³ · M. Martinez⁴ · M. Direnna⁴ · G. Bertolini⁴ ·
P. Gamazo¹ · R. Colina⁵ · E. Alvareda¹ · M. Victoria⁵

Received: 21 April 2022 / Accepted: 18 September 2022 / Published online: 1 October 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2022

Muchas gracias!