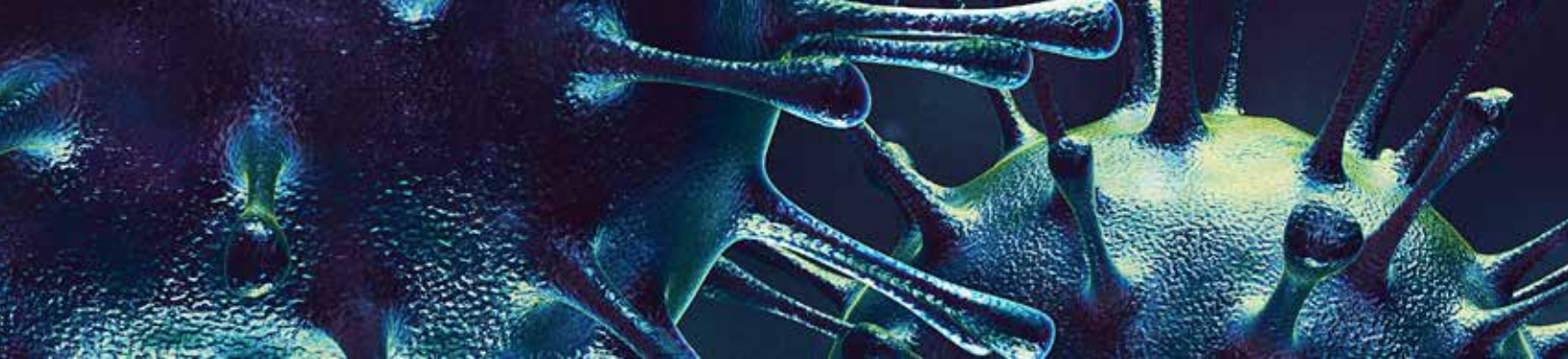


**Detección del
SARS-CoV-2
en aguas
residuales:
el caso de
Uruguay**





María José Castro, Daniela Díaz, Silvio Ronzzoni, Lucía Dellepiane, Inés Petrini, Eleuterio Umpierrez, Unidad de Medioambiente, Drogas y Doping, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, UDELAR.

Los autores desean agradecer al Ministerio de Ambiente, a la Dirección Nacional de Aguas (DINAGUA) del Ministerio de Ambiente, a la División de Agua y Saneamiento del BID (WSA) y a la Oficina de País del BID en Uruguay por el apoyo recibido.

Un reconocimiento especial a Viviana Pesce (Directora Nacional de Aguas), Andrea Gamarra e Ignacio García (Área Agua Potable y Saneamiento-DINAGUA) sin los cuales esta idea nunca se hubiese concretado.

Al personal de las plantas de OSE involucrado, por su apoyo y paciencia.

Un agradecimiento especial a Juan Gabriel Garmendia, Juan Luis Dibarboure y al personal del Instituto Tecnológico de Pando que trabajó en algunas de las distintas etapas de este proyecto

Noviembre 2021



DINAGUA
Dirección Nacional
de Aguas



Introducción

Conocer la verdadera extensión de la pandemia de COVID-19 es un gran desafío para el sector de la salud pública, desafío asociado principalmente a la existencia de pacientes asintomáticos o con síntomas muy leves que no son detectados por los sistemas de salud.

La vigilancia microbiológica en aguas residuales puede utilizarse como indicador de la circulación del virus SARS-CoV-2 en la población, para conocer el alcance de la propagación del virus en una comunidad determinada o para la detección de nuevas cepas. A nivel internacional, en 2020, durante las llamadas primeras y segundas olas de la pandemia de COVID-19, los sistemas de vigilancia epidemiológica a partir de aguas residuales advirtieron un aumento de la circulación del virus antes de que se observara un incremento en indicadores tales como resultados positivos en pruebas de COVID-19 y/o admisiones hospitalarias, lo cual permitió prever la (re)aparición de la pandemia y el aumento de consultas médicas (RIVM, 2020). El tiempo que transcurre entre la detección del virus en aguas residuales y el incremento del número de pacientes sintomáticos varía entre unos pocos días y unas pocas semanas (Comisión Europea, 2020).

Por ejemplo, en Ámsterdam y Barcelona se realizó un análisis retroactivo y se detectó la presencia del virus en algunas plantas de tratamiento de aguas residuales antes de que se diagnosticaran a nivel clínico casos positivos con sintomatología. Tanto es así que en Ámsterdam el virus SARS-CoV-2 en aguas residuales fue identificado tres semanas¹ antes de la aparición de los primeros casos reportados con resultados positivos en pruebas de diagnóstico² (Comisión Europea, 2020).

¹ Fecha de identificación de presencia de virus en aguas residuales: 6 de febrero de 2020.

² Fecha de reporte de los primeros casos con resultado positivo en pruebas de diagnóstico: 27 de febrero de 2020.

En consecuencia, el monitoreo del virus SARS-CoV-2 en aguas residuales permite la identificación temprana de zonas con población infectada, ya se trate de casos asintomáticos o sintomáticos y, por consiguiente, facilita predecir la evolución de la pandemia. La utilización de esta herramienta ha demostrado su efectividad, incluso cuando la prevalencia de la COVID-19 presente niveles bajos en la población.³ Además, posibilita una detección temprana de la aparición, circulación y expansión de nuevas variantes de preocupación desde el punto de vista de la salud pública.

Por lo tanto, desarrollar un sistema de alerta temprana de detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales es fundamental para brindar información confiable, rápida y de bajo costo, ya que permite identificar brotes o aportar información en tiempo real sobre la circulación del virus en la población. Esto es sumamente valioso para los responsables de la toma de decisiones, no solo por su alcance en términos de la población abarcada sino también por los bajos costos operativos que representa para elaborar una estrategia de vigilancia complementaria.

Este trabajo, realizado en cooperación con la Dirección Nacional de Aguas (DINAGUA) del Ministerio de Ambiente y el Banco Interamericano de Desarrollo (BID) implicó poner a punto la técnica de detección por RT-PCR del ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales, diseñar campañas de monitoreo en las ciudades priorizadas por el Ministerio de Salud Pública (MSP), y optimizar la metodología de muestreo en función de las características particulares del sistema de saneamiento de cada ciudad. Los monitoreos se realizaron en las ciudades de Artigas, Bella Unión, Canelones, Ciudad de la Costa, Maldonado/Punta del Este y Rivera, entre julio de 2020 y enero de 2021. A continuación, en forma resumida, se presenta la experiencia desarrollada.

³ Véase el enlace <https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/vertidos-de-aguas-residuales/alerta-temprana-covid19/>.



Contexto internacional

Desde los inicios de la década del 2000 se considera que el análisis de las aguas residuales constituye una fuente de información sobre la salud de la población, tanto en cuestiones relacionadas con el consumo de drogas de abuso como en lo que atañe a la identificación de focos y tendencias de consumo de medicamentos.

En 2002-03 el SARS-CoV generó la primera pandemia del siglo XXI y, a partir de su estudio, se conoce que el ARN de ese virus se excreta en las heces y puede ser detectado en las aguas residuales (Peiris, 2003).

En 2014 en el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) se creó Underworlds, un proyecto de alcance mundial para el seguimiento de bacterias, hongos y virus en aguas residuales urbanas. Gracias a él, se logró identificar más de 4.000 diferentes clases de bacterias, hongos y virus en las redes cloacales de Boston y Cambridge (Estados Unidos), Seúl (República de Corea) y Ciudad de Kuwait (Kuwait) (Reis-Castro, 2017).

El 11 de marzo de 2020, luego de haberse reportado la presencia del SARS-CoV-2 en 114 países, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la existencia de la pandemia de COVID-19 (OMS, 2020). Si bien los síntomas más comunes eran fiebre, tos seca y fatiga, algunos pacientes desarrollaron vómitos, diarrea y dolor abdominal durante el curso de la enfermedad (Jinyang Gu, 2020). El hallazgo de estas observaciones clínicas tuvo implicaciones importantes en lo que se refiere a la transmisión y el control de la infección. Entre otras consecuencias, esto puso de relieve la posibilidad de detectar el virus en heces de pacientes sintomáticos y asintomáticos y, por ende, en aguas residuales (Rampelli, 2020), y

establecer una estrategia de control y seguimiento. En abril de 2020 un grupo de 53 investigadores de 12 países destacó el potencial de la realización de estudios epidemiológicos basados en aguas residuales (Bivins, 2020).

El monitoreo de aguas residuales es especialmente relevante a los efectos de la salud pública, ya que permite determinar la carga de infecciones no diagnosticadas en la población. Además, las aguas residuales ofrecen una muestra agregada de toda la población conectada en la red de saneamiento, lo cual resulta mucho más accesible que las muestras clínicas agrupadas, cuya obtención requiere más tiempo y trabajo (Murakami, 2020). Junto con los datos clínicos y otros enfoques tecnológicos, como el rastreo de contactos, la vigilancia basada en el estudio de aguas residuales proporciona un monitoreo crítico de la transmisión del SARS-CoV-2 dentro de una comunidad, lo cual abarca desde el comienzo y considera la disminución de casos o la reaparición de brotes (Bivins, 2020).

Además, la excreción temprana del virus en las heces con respecto al inicio de los síntomas en las vías respiratorias permitió elaborar estrategias de vigilancia basadas en el monitoreo de aguas residuales en varias regiones del mundo (Medema, 2020; Ahmed, 2020; Mao, 2020; Hart, 2020; Wurtzer, 2020; La Rosa, 2020; Prado, 2020; Randazzo, 2020), y es particularmente útil y costo-eficiente. La vigilancia basada en aguas residuales también se puede utilizar como herramienta para la toma de decisiones en la fase posterior al aislamiento, es decir, en el reinicio de las actividades y la finalización del confinamiento de la población, y en el restablecimiento de las condiciones de aislamiento frente a un rebrote o un resurgimiento estacional. Por todo ello, también resulta especialmente útil en términos de facilitar la reactivación económica. Debido a su bajo costo, la vigilancia basada en aguas residuales puede representar

el único medio viable de vigilancia eficaz para las regiones de bajos ingresos o con escasa capacidad instalada del sistema de salud para la detección clínica de casos (Cervantes-Avilés, 2021).

Por otro lado, tener a disposición una herramienta de vigilancia a partir de aguas residuales puede servir como sistema de alerta temprana para la detección de variantes virales antes de su expansión en la población (Wilton, 2021).

Contexto local

El viernes 13 de marzo de 2020 se detectó el primer caso positivo de COVID-19 en Uruguay. Desde ese momento, se decretó el estado de emergencia sanitaria con cierre de fronteras y se exhortó a la población a cumplir medidas de aislamiento social y cuarentena voluntaria. Entre otras medidas, se suspendieron las clases presenciales en todos los niveles de enseñanza; se estableció el teletrabajo para las oficinas públicas (a excepción de los servicios esenciales), se exhortó a la implementación del mismo en el sector privado; y se suspendieron los espectáculos públicos, eventos, fiestas sociales y toda circunstancia que implicara aglomeración de personas, con el fin de frenar la propagación de contagios (Gómez-Camponovo, 2020).

La frontera seca con Brasil devino un foco de atención especial, debido a la situación sanitaria que vivía ese país, en donde existía una alta circulación comunitaria del virus SAR-CoV-2. La particular dinámica poblacional de las ciudades binacionales del norte de Uruguay podía generar casos de contagio importados y convertirse en una puerta de entrada de nuevas variantes de preocupación. Por ello, apenas se detectaron casos positivos de COVID-19 en el territorio uruguayo de las ciudades binacionales, el MSP priorizó la puesta en marcha del sistema de alerta temprana en dicha zona.

Desde marzo de 2020 hasta octubre de 2021, la situación de Uruguay se ha ido modificando y eso también ha afectado la capacidad de detectar cambios en la carga viral de las aguas residuales. Por ejemplo, actualmente se cuenta con una circulación comunitaria del virus SARS-CoV-2 de relativa baja incidencia en la generación de nuevos casos, lo cual es principalmente producto del alto porcentaje de vacunación. De este modo, aunque se detecta carga viral en las aguas residuales, no se reportan tantos casos notificados como en la situación previa a la vacunación.



Diseño del sistema de alerta temprana

A continuación, se presentan los detalles del trabajo realizado.

Selección de los puntos de monitoreo

Debido a la evolución de la pandemia a nivel nacional y, particularmente en los países vecinos (Argentina y Brasil), se priorizó el monitoreo de las ciudades binacionales de Artigas, Bella Unión y Rivera, localizadas al norte del país sobre la frontera seca con Brasil. El monitoreo de estas ciudades se llevó a cabo desde agosto de 2020 hasta enero de 2021.

Adicionalmente, durante diciembre de 2020 y enero de 2021 se monitoreó la ciudad de Punta del Este/Maldonado, ya que se trata de la principal ciudad balnearia del país y una gran cantidad de población migró hacia allí ante la posibilidad de realizar teletrabajo durante la emergencia sanitaria. También se realizaron muestreos de oportunidad en las ciudades de Treinta y Tres y Chuy.⁴

A los efectos de desarrollar la técnica de RT-PCR en aguas residuales y ponerla a punto, se efectuaron muestreos en puntos más cercanos al centro de investigación, para minimizar los traslados y plazos asociados, así como también ensayar distintos tipos de muestreos y condiciones de monitoreo in situ. Por tales razones, se monitorearon la ciudad de Canelones, la Ciudad de la Costa y Pando.

En cada urbe se seleccionó la entrada al sistema de tratamiento de aguas residuales como punto de monitoreo.

⁴ En el presente trabajo solo se incluyen los resultados asociados al monitoreo de las ciudades de Artigas y Rivera.

Mapa 1: Ciudades monitoreadas como parte del estudio de aguas residuales para detección del SARS-CoV-2



Diseño de la metodología de muestreo

Para el diseño de la metodología de muestreo en cada ciudad hubo que considerar sus características particulares, como tamaño y población con acceso a saneamiento; la posible existencia de aportes pluviales, el caudal de infiltración o los aportes no domiciliarios; la accesibilidad al punto de monitoreo seleccionado, y asuntos relacionados con la seguridad del personal y del equipo por instalar.

Para contar con muestras representativas del ciclo diario se realizó un monitoreo automático durante 24 horas y un monitoreo manual a partir de muestras compuestas durante cuatro horas. El monitoreo automático se efectuó con un muestreador SD900 con rotor de 24 frascos individuales, el cual tomó muestras individuales de 30 ml cada 10 minutos, o muestras de 200 ml cada hora, según correspondiere. El monitoreo manual se realizó a partir de muestras individuales de 250 ml cada una, obtenidas a intervalos de 15 minutos.

A los efectos de garantizar la correcta operación del muestreador automático se consideraron factores como la duración de la batería del mismo en función del programa de muestreo definido, el número de recipientes de recolección necesarios, las profundidades de los sitios de muestreo, así como la velocidad del flujo esperado y la posibilidad de obstrucción del filtro presente en el puntero de muestreo.

Luego de los primeros muestreos realizados como tarea piloto, se definieron diversos protocolos de muestreo para cada lugar, de acuerdo con sus requerimientos particulares y en función de la incidencia de nuevos casos de COVID-19 en cada ciudad.

Con respecto a la frecuencia del monitoreo, inicialmente se había considerado realizar un muestreo quincenal; sin embargo, ante la presencia de nuevos casos surgidos en poco tiempo, se decidió pasar dicha frecuencia a una periodicidad semanal. En efecto, cuanto más seguido se efectúe el muestreo, mayor será la eficacia para la detección de la circulación del virus en la población y, en consecuencia, mayor utilidad tendrá la herramienta como sistema de vigilancia epidemiológica.

Con la intención de realizar una normalización de los resultados obtenidos para asegurar la comparabilidad de las muestras, se llevaron adelante ensayos complementarios de demanda química de oxígeno (DQO), demanda biológica de oxígeno (DBO), sólidos totales, sólidos disueltos totales y sólidos suspendidos totales.⁵ Adicionalmente, en cada monitoreo se efectuaron determinaciones fisicoquímicas de pH, temperatura y conductividad. Posteriormente, y a partir de los valores de caudal afluente, las muestras fueron ponderadas por tiempo o volumen según correspondiese.

En forma paralela, durante todo el desarrollo del trabajo, se produjeron intercambios técnicos con distintos referentes,⁶ en cuyo caso se expusieron los distintos sistemas de muestreo, sus adaptaciones según cada localidad y la metodología de detección del virus SARS-CoV-2 seleccionada.

5 Durante el desarrollo de este trabajo, así como a partir de la evolución del estado del arte sobre este tema, se concluyó que estos parámetros no eran de utilidad para la normalización de los resultados.

6 Los referentes provienen de las siguientes entidades: la Agencia Nacional de Aguas y el Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Sostenibles (INCT), de Brasil; la Agencia de Protección Ambiental (EPA), de Estados Unidos; Aguas Residuales INFO y Eurecat-Barcelona, de España; Agua y Saneamientos Argentinos (AySA), de Argentina; Joint Research Centre (JRC), de la Unión Europea; KWR Water Research Institute, de Países Bajos; y Watershare.

Puesta a punto de la técnica de laboratorio

La mayoría de las estrategias para detectar la presencia de virus en matrices ambientales constan de tres pasos: 1) concentración viral, 2) purificación de ácidos nucleicos y 3) detección molecular (OPS, 2021). El SARS-CoV-2 pertenece a la familia del coronavirus, cuyo material genético es de tipo ARN. Para su monitoreo en aguas residuales, es necesario seleccionar métodos que permitan su detección y que puedan sortear las distintas interferencias inherentes a las muestras. Además, para poder llevar a cabo la vigilancia basada en aguas residuales, es necesario detectar y cuantificar de manera precisa el ARN del virus específico (Patel, 2021).

El método más utilizado para la detección y cuantificación del SARS-CoV-2 en aguas residuales es la RT-qPCR. Este implica la amplificación de una secuencia específica de ADN que permite detectar y reconocer al virus, aunque se encuentre en muy pequeñas cantidades. Adicionalmente, por tratarse de un virus de ARN, el método de detección involucra un paso denominado de transcripción reversa (RT), que debe aplicarse antes de la amplificación, y que facilita la obtención de ADN viral a partir de ARN. Además, en aguas residuales, es necesario concentrar las partículas virales presentes en la muestra para su amplificación y su posterior detección por el método de PCR, para lo que se emplean diferentes métodos, con sus ventajas y desventajas propias. En este proyecto se realizó una incubación con polietilenglicol (PEG) y posteriormente la centrifugación para concentrar el material viral.

Para poder llevar adelante este trabajo fue necesario emplear técnicas que precisaran insumos disponibles en cantidades suficientes; en particular, era fundamental contar con kits comerciales que permitieran detectar una secuencia genómica específica del virus SARS-CoV-2. Con el avance de la pandemia, el suministro internacional de kits para este propósito, como los creados por r-Biopharm y RIDA® GENE SARS-CoV-2 RUO, comenzó a escasear. Afortunadamente, a nivel local, el laboratorio ATGen, la Universidad de la República y el Instituto Pasteur de Uruguay desarrollaron en conjunto un kit de detección a partir del protocolo propuesto por el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos, gracias a lo cual fue posible contar con kits locales de rápido acceso y en cantidad abundante.

Adicionalmente, la técnica de RT-PCR fue validada contra ensayos interlaboratorios con la firma Biobot Analytics⁷ de Estados Unidos. De un total de 20 muestras cruzadas se obtuvo un 100% de concordancia, tanto para muestras negativas como positivas intercambiadas.

⁷ Apoyo suministrado por el Banco Mundial.



Resultados

Durante la etapa de análisis de los resultados, se debió identificar a la población infectada que realmente impactaba en la carga viral presente en las aguas residuales monitoreadas. Para ello, se entrecruzó la información de cobertura de la red de saneamiento y la correspondiente a los casos positivos reportados por el MSP, incluidos los pacientes que hubieran sido hospitalizados. De esta manera, fue posible detectar claramente la porción de la población que, estando infectada, aportaba a la red de saneamiento y, por lo tanto, a las muestras analizadas.

A continuación, a modo de ejemplo, se presentan los resultados obtenidos para las ciudades de Artigas y Rivera, representados gráficamente como la evolución temporal del número de pacientes notificados presentes en la zona servida por el sistema de saneamiento versus el número de copias totales del virus detectadas en las muestras recolectadas durante 24 horas realizadas con una frecuencia semanal (gráficos 1 y 2).

Gráfico 1: Casos notificados según semana epidemiológica en la zona con servicio de saneamiento versus copias totales de SARS-CoV-2 detectadas en muestras de 24 horas, agrupados de forma semanal, Artigas

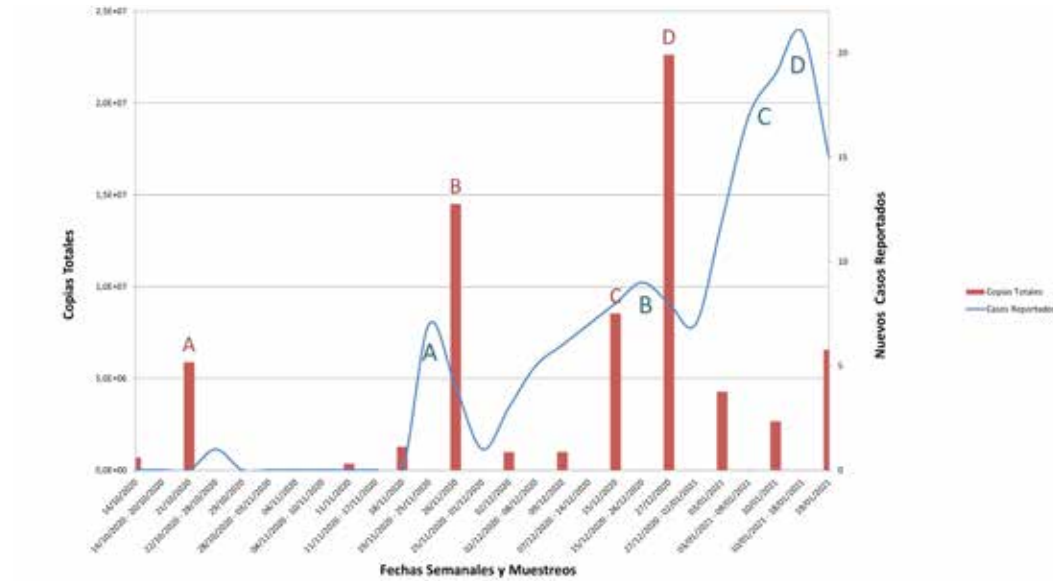
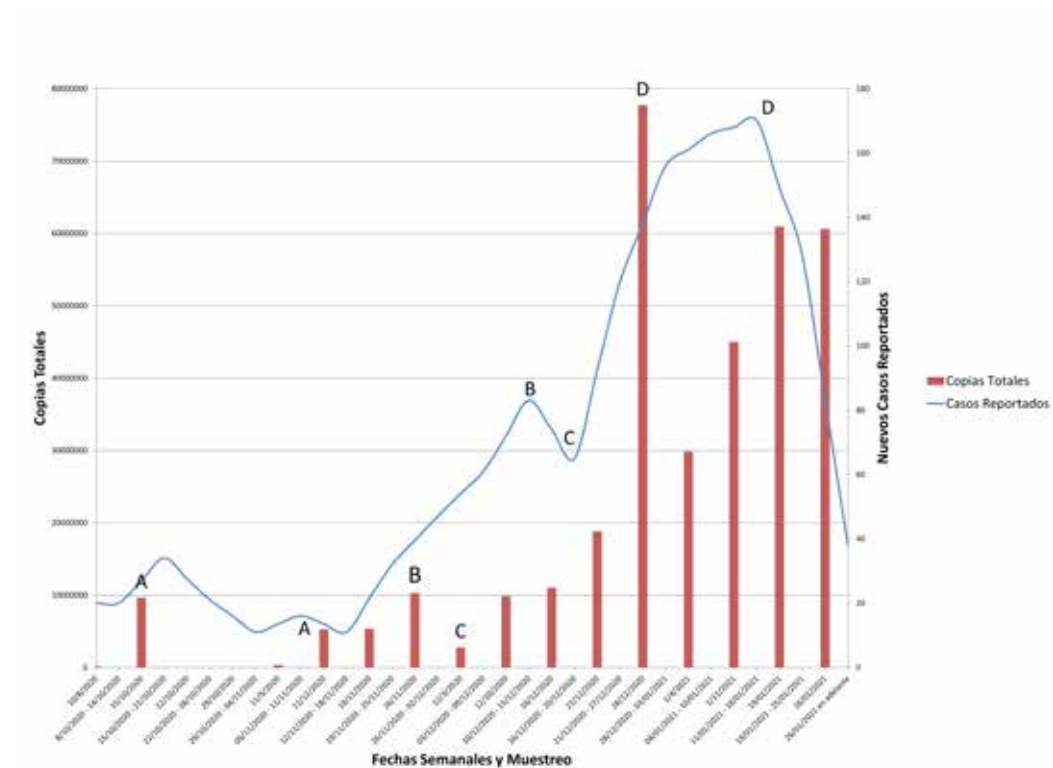


Gráfico 2: Casos notificados según semana epidemiológica en la zona con servicio de saneamiento versus copias totales de SARS-CoV-2 detectadas en muestras de 24 horas, agrupados de forma semanal, Rivera



Como se puede apreciar en los gráficos, el modelo anticipa la ocurrencia de casos positivos o brotes de infección antes de que sean reportados ante el MSP.

Si se observa el gráfico 1, donde se representan los datos de la ciudad de Artigas, se puede ver una tendencia al aumento en el número de copias de virus SARS-CoV-2 (puntos A, B, C y D sobre las barras rojas), que es correlativa con el incremento de nuevos casos notificados reportados por el MSP (puntos A, B, C y D sobre la línea celeste continua). Esta tendencia se indica con una anticipación de 13 días en relación con el pico máximo de casos positivos informados (punto D en el gráfico). La misma tendencia se puede apreciar en el gráfico 2, donde se representan los resultados de la ciudad de Rivera.

Por lo tanto, se verifica que el modelo de muestreo y análisis desarrollado en el proyecto es pertinente para la implementación de un sistema de alerta temprana de infección con COVID-19.

En la fase final de la toma de muestras, cuando el país estaba viviendo una ola de contagios importante, las cifras de vigilancia de las aguas residuales estuvieron más sincronizadas con las pruebas positivas y los ingresos hospitalarios.

Por consiguiente, se puede concluir que rastrear la presencia del virus en aguas residuales a intervalos regulares cortos podría resultar útil para anticipar brotes o el resurgimiento de la pandemia por las mismas o nuevas variantes del SARS-CoV-2.

Lecciones aprendidas

Cada red de saneamiento tiene sus peculiaridades y el diseño del muestreo debe tomarlas en consideración para asegurar su éxito. A fin de definir el punto óptimo para la toma de muestras en los casos estudiados para este trabajo, fue preciso considerar la accesibilidad de cada sistema de saneamiento; la posibilidad de realizar conjuntamente muestreos de parámetros fisicoquímicos, y las características singulares de cada efluente (por ejemplo, la variación del caudal o la calidad de las aguas residuales en aquellas redes con intrusión pluvial o aportes no domiciliarios).

Además, hubo que atender cuestiones relacionadas con el funcionamiento de los propios equipos de muestreo, como la disponibilidad de abastecimiento eléctrico y de resguardo ante las inclemencias del tiempo. En el trabajo de campo, fue menester sortear una variada cantidad de imprevistos, lo que dejó en claro la necesidad crucial de contar con personal capacitado para detectar todo alejamiento de las condiciones ideales, de forma de poder evaluar in situ la mejor solución sin comprometer la calidad del muestreo.

Al comenzar las tareas de monitoreo, se realizó una batería de análisis complementarios con el objetivo de poder normalizar las muestras y asegurar su comparabilidad. Sin embargo, al procesar los primeros resultados, y a partir del avance del estado del arte sobre este tema, se concluyó que estos parámetros no eran de utilidad. Particularmente, los resultados de contenido de sólidos no mostraron la correlación esperada con los correspondientes al SARS-CoV-2. Luego de efectuar evaluaciones posteriores, se dedujo que los sistemas no eran exclusivamente domiciliarios, y que en algunos puntos los resultados podían sufrir alteraciones debido a la presencia de efluentes no domiciliarios y aportes pluviales.

Otra importante lección aprendida corresponde a la selección de insumos para el análisis de laboratorio cuyo abastecimiento esté garantizado a lo largo de toda la duración del proyecto. La utilización de kits de producción local para la detección del SARS-CoV-2 contribuyó a evitar problemas provocados por la baja disponibilidad mundial de kits comerciales y a eludir las dificultades asociadas a su importación.

Por último, cabe destacar que para realizar la cuantificación del material viral se debe contar con material de referencia, es decir, con una muestra real cuya concentración de ARN viral se conozca con exactitud.

Desafíos de cara al futuro

Existe consenso internacional acerca de la validez del monitoreo de la carga de ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales como una herramienta adicional para analizar la evolución de la pandemia de COVID-19. Sin embargo, aún restan varias cuestiones por definir sobre cómo llevarlo a cabo.

La rápida evolución del conocimiento científico asociado al SARS-CoV-2 ha obligado a repensar parte del monitoreo realizado, particularmente en lo que atañe a la frecuencia. Al inicio del proyecto, sobre la base de la literatura disponible hasta la fecha, se consideró un muestreo quincenal. Sin embargo, durante la evolución del proyecto se apreció que dicha periodicidad era escasa, por lo que se aumentó a una frecuencia semanal. Hoy en día, las publicaciones más recientes (Zhu et al., 2021) sugieren un muestreo semanal como mínimo e idealmente con una frecuencia de dos veces por semana. Además, se debe continuar trabajando para identificar algún indicador de presencia de materia fecal que permita normalizar la cuantificación de las copias de ARN del virus detectadas en las aguas residuales. Actualmente existen pocas publicaciones al respecto, y aún no se ha llegado a un consenso a nivel internacional, pero se ha obtenido información personal de otros grupos de investigación que están trabajando sobre la base de varios virus, como el PMMoV por BIOBOT; el MgV y PEDV por Eurecat-Barcelona, y el CrAssphage por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Estados Unidos. Este es un punto crucial para poder extrapolar la información de las copias génicas en la red de saneamiento, independientemente de los efectos de degradación y dilución en la red.

Por otro lado, el tiempo transcurrido entre la toma de muestras y la obtención de resultados es crítico para conformar un sistema de alerta temprana. El resultado de laboratorio de TR-PCR no debería exceder las 48 horas, aunque correspondería optimizarlo para obtener resultados en 24 horas. De esta forma, se puede contar con información muy útil para la toma de decisiones y la elaboración de estrategias de control a las 36 horas de realizado el muestreo.

Por último, habría que continuar trabajando en la elaboración de criterios para mejorar la información de base, a fin de lograr interpretaciones más acertadas para impulsar propuestas de políticas públicas de vigilancia epidemiológica y criterios de decisión.

Conclusiones

Luego del análisis exhaustivo de datos, que incluyó la comparación de los resultados obtenidos a partir de las muestras analizadas con información reportada por el MSP acerca de personas infectadas por la COVID-19, se puede concluir que el modelo estudiado puede anticipar la presencia de casos notificados o brotes de infectados.

Para que el modelo sea eficaz como herramienta de alerta temprana, es necesario acceder a información en tiempo real del caudal de aguas residuales que circula por la red de saneamiento, así como realizar tomas de 24 horas para obtener muestras representativas, con una frecuencia de dos veces por semana. Asimismo, se requiere efectuar la normalización de los datos obtenidos por contenido de materia fecal.

Asimismo, es crítico poder coordinar en tiempo real con el sistema de vigilancia epidemiológica, de forma tal de poder dar seguimiento a los datos obtenidos en laboratorio (producto del estudio de las muestras), y conocer que está sucediendo con la distribución de casos en la población. Igualmente es necesario que el sistema de vigilancia tome conocimiento en el menor lapso posible con la información proveniente del muestreo de aguas residuales. Estos constituyen pasos esenciales si quiere configurarse un sistema de alerta temprana.

Bibliografía

Ahmed, W. 2020. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci. Total Environ.*

Bivins, A. et al. 2020. Wastewater-Based Epidemiology: Global Collaborative to Maximize Contributions in the Fight Against COVID-19. *Environmental Science & Technology* 54(13): 7754-57.

Cervantes-Avilés, P. 2021. Approaches applied to detect SARS-CoV-2 in wastewater and perspectives post-COVID-19. *Journal of Water Process Engineering*, 40, 101947.

Comisión Europea. 2020. Tracking COVID-19 employing waste waters: a reliable indicator for supporting the prevention and management of the pandemic. Bruselas: Comisión Europea. Disponible en: <https://ec.europa.eu/environment/water/water-urbanwaste/info/pdf/Waste%20Waters%20and%20Covid%2019%20MEMO.pdf>.

EMCDDA (Centro Europeo de Monitoreo de Drogas y Toxicomanías). 2020. COVID-19: New EMCDDA Study Highlights Decline in Stimulant Drug Use but Some Rises in the Use of Cannabis, Alcohol and Prescription Medicines to Combat Anxiety and Depression. Lisboa: EMCDDA. Disponible en: https://www.emcdda.europa.eu/news/2020/covid-19-new-emcdda-study-highlights-decline-stimulant-drug-use_en.

Gómez Camponovo M y M. Achkar. 2020. Environmental health compromised by a new epidemic. The case of Uruguay, COVID-19. *Salud UIS*, 52 (3): 327-331.

Gundy, P. M., Ch. P. Gerba e I. L. Pepper. 2009. Survival of Coronaviruses in Water and Wastewater. *Food and Environmental Virology*, 1(1): 10.

Hart, O. E. 2020. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: feasibility, economy, opportunities and challenges. *Sci Total Environ*.

Jinyang, G. (2020). COVID-19: Gastrointestinal Manifestations and Potential Fecal-Oral Transmission. *Gastroenterology*.

La Rosa, G. 2020. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Sci Total Environ*.

Mao, K. 2020. The potential of wastewater-based epidemiology as surveillance and early warning of infectious disease outbreaks. *Curr. Opin. Environ. Sci. Heal.* 1-7.

Medema, G. 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. *Environ Sci Technol Lett.* 511-516.

Medema, G., L. Heijnen et al. 2020. Presence of SARS-Coronavirus-2 in Sewage. *Occupational and Environmental Health*, 23 de septiembre. Disponible en: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.03.29.20045880>.

Medema, G., F. Been, L. Heijnen y S. Petterson. 2020. Implementation of Environmental Surveillance for SARS-CoV-2 Virus to Support Public Health Decisions: Opportunities and Challenges. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 17: 49-71.

Murakami, M. 2020. Letter to the Editor: Wastewater-Based Epidemiology Can Overcome Representativeness and Stigma Issues Related to COVID-19. *Environmental Science & Technology*, 54 (9): 5311.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2020. Alocución de apertura del director general de la OMS en la rueda de prensa sobre la COVID-19 celebrada el 11 de marzo de 2020. Ginebra: OMS.

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2021. Guía para el análisis y la cuantificación del SARS-CoV-2 en aguas residuales. Washington, D.C.: OPS.

Patel M., A. K. Chaubey, Jr. C. U. Pittman, T. Misna y D. Mohan. 2021. Coronavirus (SARS-CoV-2) in the environment: Occurrence, persistence, analysis in aquatic systems and possible management. *Sci Total Environ.* 765: 142698.

Peiris, J. S. M. 2003. The Severe Acute Respiratory Syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 11.

Prado, T. 2020. Preliminary results of SARS-CoV-2 detection in sewerage system in Niterói municipality, Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*

Rampelli, S. et al. 2020. Retrospective Search for SARS-CoV-2 in Human Faecal Metagenomes. SSRN, 19 de marzo. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3557962>.

Randazzo, W. 2020. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Res.*

Reis-Castro, L. 2017. The Underworlds Project and the “Collective Microbiome”: Mining Biovalue from Sewage. In V. Pavone y J. Goven (eds.), *Bioeconomies*. Cham: Springer International Publishing, pp. 105-27. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-55651-2_5.

RIVM (National Institute for Public Health and the Environment). 2020. Coronavirus Monitoring in Sewage Research. Ámsterdam: RIVM. Disponible en: <https://www.rivm.nl/en/covid-19/sewage>.

Wilton, T. 2021. Rapid increase of SARS-CoV-2 variant B. 1.1. 7 detected in sewage samples from England between October 2020 and January 2021. *medRxiv*

Wurtzer, S. 2020. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *medRxiv*.

Zhu, Y. et al. 2021. Early Warning of COVID-19 via Wastewater-Based Epidemiology: Potential and Bottlenecks. *Science of The Total Environment* 767: 145124.

