



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró reitoria de pesquisa

Av. dos Estados, 5001, Santa Terezinha, Santo André/SP, CEP 09210-580

Bloco L, 3ºAndar, Fone (11) 3356-7617

iniciacao@ufabc.edu.br

Projeto de Iniciação Científica submetido
para avaliação no Edital: 04/2022

Título do projeto: Monitoramento de SARS-CoV-2 em águas superficiais do reservatório de Itaipu (Brasil): concentração viral e análises físico-química da água como ferramenta epidemiológica.

Palavras-chave do projeto: SARS-CoV-2, Epidemiologia, águas superficiais, WBE

Área do conhecimento do projeto: Saúde Pública, Epidemiologia, Saneamento Ambiental, Ciências Ambientais

Sumário

1 Abstract.....	2
2 Resumo.....	3
3 Introdução e Justificativa.....	3
4 Objetivos.....	6
5 Metodologia.....	6
6 Viabilidade.....	8
7 Cronograma de atividades.....	8
Referências.....	8

1 Abstract

In March 2020, the population was taken by surprise with the beginning of a pandemic that spread fasten throughout the world. The speed of the virus proliferation forced scientists to have this same pace, reason why in a short period of time we already had information about SARS-COV-2, such as its genome and means of transmission. Amongst the discoveries mentioned, scientists also confirmed the presence of this virus in the feces of infected patients and, consequently, in sewage samples. Since then, with the confirmation of relation between viral load in sewage samples and positive cases of COVID-19, sewage monitoring has become a fundamental epidemiological tool to alert the increase in the number of cases of the disease, especially for asymptomatic cases, that are more difficult to identify. This tool also proved to be essential for countries which has limited capacity of performing clinical trials, due to the low cost of implementation and the possibility of rapid intervention and assistance in the planning of public health policies. However, many regions have poor sanitation or irregular sewage treatment, which leads to discharge into surface waters. The main challenges for the implementation of this tool are the lack of consolidated information and, also, of a standardized methodology. For these reasons, this research seeks to contribute to the advancement of further research regarding the monitoring of SARS-COV-2 in the environment, through the evaluation of the concentration of water samples from springs, in specific regions of the Itaipu Hydroelectric Unit (UHI), where the technique of concentration of water samples for the detection of coronavirus will be carried out and validated, and also by the grouping of information in a summary table for easy consultation, from articles already published.

2 Resumo

Em março de 2020, a população foi pega de surpresa com o início de uma pandemia que se espalhou rapidamente pelo mundo. A velocidade que o vírus se espalhava obrigou cientistas a seguirem este mesmo ritmo, por isso, em pouco tempo já tínhamos informações sobre o SARS-COV-2, como seu genoma e meios de transmissão. Entre as descobertas citadas, cientistas também comprovaram a presença deste vírus nas fezes de pacientes e, consequentemente, em amostras de esgoto. A partir de então, comprovada a relação entre a carga viral em amostras de esgoto e casos positivos de COVID-19, o monitoramento de esgoto se tornou uma ferramenta epidemiológica fundamental de alerta para o aumento do número de casos da doença, principalmente para casos assintomáticos que são mais difíceis de identificar. Essa ferramenta também mostrou-se essencial para países com capacidade limitada para testes clínicos, devido ao baixo custo de implementação e possibilidade de rápida intervenção e auxílio no planejamento de políticas de saúde pública. No entanto, muitas regiões possuem saneamento básico precário ou tratamento irregular de esgoto, ocorrendo, então, o despejo em águas superficiais. Os principais desafios para a implementação desta ferramenta são a falta de informações consolidadas e, também, de uma metodologia padronizada. Por estes motivos, esta pesquisa busca contribuir para o avanço de pesquisas futuras a respeito do monitoramento do SARS-COV-2 no ambiente, por meio da avaliação da concentração de amostras de águas dos mananciais, em regiões específicas da Unidade Hidrelétrica de Itaipu (UHI), onde será realizada e validada a técnica de concentração das amostras de água para detecção do coronavírus e, também, pelo agrupamento de informações em um quadro síntese para fácil consulta, a partir de artigos já publicados.

3 Introdução e Justificativa

No dia 11 de março de 2020, a OMS decretou o estado de pandemia, após a notificação de diversos casos de uma suposta pneumonia, que teve início na cidade Wuhan, na China e, rapidamente, se espalhou pelo mundo. Tratava-se da COVID-19, uma doença respiratória, que a princípio, acreditava-se causar um resfriado comum, no entanto, com o rápido aumento de casos e a confirmação da primeira morte em 12 de março do mesmo ano (OMS), mostrou-se a gravidade da doença.

Iniciou-se, então, uma corrida científica para compreender como o SARS-COV-2 se comportava: como produzir vacinas, como identificá-lo e como contê-lo. Já no primeiro semestre de 2020, diversos estudos identificaram a presença do SARS-COV-2 em amostras de esgoto, uma vez que, a presença desse vírus já havia sido comprovada nas fezes de pacientes

infectados (Tian et al., 2020; Cheung et al., 2020), sendo eles sintomáticos, oligossintomáticos ou assintomáticos (Kitajima et al., 2020).

O monitoramento de esgotos como instrumento epidemiológico é chamado Epidemiologia Baseada em Águas Residuais, do inglês wastewater-based epidemiology (WBE). Inicialmente, esta metodologia foi desenvolvida para monitorar o uso de drogas, no entanto, rapidamente, mostrou-se como uma ferramenta para complementar dados epistemológicos, já tendo apresentado sucesso em monitorar outros vírus, como o Aichivírus, na Holanda (Lodder et al., 2013) e o Poliovírus, em Israel (Brouwer et al., 2018).

Diversos estudos (Rimoldi et al., 2020; Guerrero et al., 2020; Razzolini et al., 2021) mostraram uma relação linear entre a presença do SARS-COV-2 em amostra de esgotos e o número casos reportados de pacientes com COVID em determinado período. Estes estudos sugerem que o monitoramento de águas residuais pode ser uma importante ferramenta de alerta para o aumento de número de casos (Orive et al., 2020; Xagorarakis and O'Brien, 2020), principalmente para casos assintomáticos, visto que, raramente estes casos são identificados (Haramoto et al., 2020), especialmente na situação atual, visto que, com o avanço da vacinação e diminuição do número de casos graves, a procura por testes diminuiu.

Além disso, esta é uma ferramenta importante para países emergentes com capacidade limitada para testes clínicos (Bhattacharya et al., 2021); visto que, fornece dados de uma área inteira ou sub-bacia e, com baixo custo de implementação (Bivins et al., 2020b), permitindo rápida intervenção e auxílio no planejamento de políticas de saúde pública (MANTOVANI et al., 2016).

No entanto, em casos de saneamento básico precário ou tratamento irregular de esgoto, que ocorre majoritariamente em regiões mais pobres (Guerrero et al., 2020), excreções humanas podem ser despejadas no ambiente (OMS), como, por exemplo, em águas superficiais (Haramoto et al., 2020). Até o momento, não há evidências de que a COVID-19 possa ser transmitida por águas contaminadas; todavia, há poucos estudos sobre a presença do SARS-COV-2 nestes ambientes. Por isso, a OMS alertou sobre a necessidade de mais estudos sobre a persistência do SARS-COV-2 nas matrizes ambientais.

A presença do SARS-COV-2 em águas superficiais já foi confirmada em estudos recentes (Mahlknecht et al., 2021); no entanto, o potencial de risco de contaminação é considerado baixo para atividades de recreação no local. Porém, vale ressaltar que, segundo estudos, aproximadamente 884 milhões de pessoas em todo o mundo não têm acesso a água doce,

cerca de 1,8 bilhões de pessoas usam como fonte de água potável água contaminada com fezes e 4,2 bilhões de pessoas estão desprovidas de saneamento gerenciado com segurança (BHOWMICK et al., 2020), o que serve como alerta para o risco de contaminação e para a importância de se realizar mais pesquisas na área. Contudo, ainda há muitos desafios para a implementação desta ferramenta, pois há diversos aspectos epidemiológicos e metodológicos a serem esclarecidos (Zhu et al., 2021). Autores relataram discrepâncias nos conjuntos aplicados (Aguiar-Oliveira et al., 2020; Daughton, 2020; Zhu et al., 2021); somado ao fato de que os protocolos de amostragem, detecção, quantificação, extração, tratamento e armazenamento da amostra não estão padronizados. Logo, pesquisas futuras devem estar voltadas para o desenvolvimento de um modelo adequado de análise, considerando, também, futuras variantes; além de análises a respeito da eficácia de remoção do SARS-COV-2 em estações de tratamento, viabilidade do vírus, influência do clima e o uso de marcadores químicos como rastreadores (Mahlknecht et al., 2021).

Para mais, não há informações consolidadas a respeito de: disseminação por excreções humanas, quantidade de carga viral excretada e massa excretada por indivíduo (Claro et al., 2021). Assim, a falta de informações e métodos consistentes prejudica o andamento das pesquisas.

Para alguns cientistas, a pandemia de COVID-19 pode ser uma oportunidade para a aceleração da execução do objetivo sustentável 6 da ONU (Mahlknecht et al., 2021), que propõe água potável e saneamento para todos. Ademais, a Epidemiologia Baseada em Águas Residuais pode ser de difícil execução em países onde a maioria das residências não está conectada à rede de esgoto (Pandey et al., 2021), por isso, o monitoramento de águas superficiais, como rios poluídos, podem ser uma alternativa para o uso desta ferramenta epidemiológica (Aguiar-Oliveira et al., 2020); para tanto, deve haver uma padronização e compatibilidade entre os dados, por meio da validação e harmonização destes.

Por este motivo, esta pesquisa tem como principal objetivo compor um projeto maior, contribuindo com o projeto citado e também para o avanço de pesquisas futuras na área. Essa técnica poderá fornecer dados em tempo real e contínuos e servir como um sistema de detecção de alerta precoce para ajudar governos e instituições de saúde locais a fazer intervenções eficazes para isolar possíveis grupos portadores de vírus de modo a controlar e prevenir epidemias.

4 Objetivos

O objetivo geral da presente pesquisa é avaliar a concentração de amostras de águas dos mananciais, em regiões específicas da Unidade Hidrelétrica de Itaipu (UHI), Foz do Iguaçu, para detectar e prever a possível propagação da COVID-19, relacionando-as com parâmetros de qualidade de água. Além disso, pretende-se agrupar as informações encontradas em artigos a respeito do monitoramento do SARS-COV-2 em águas superficiais, construindo um quadro síntese para fácil consulta.

5 Metodologia

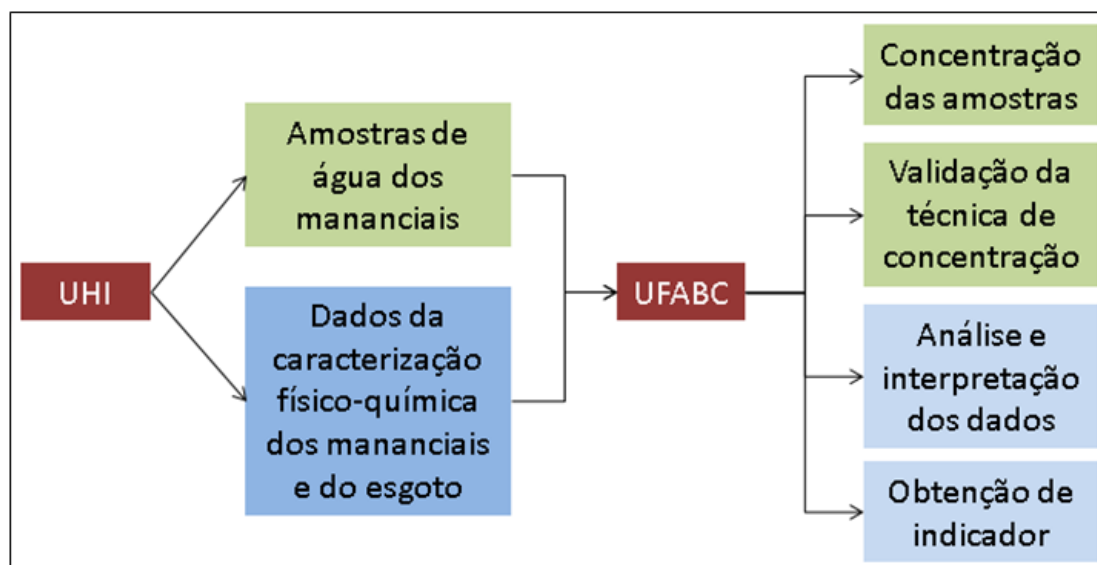
As amostras de água dos mananciais e do esgoto serão coletadas pela Unidade Hidroelétrica de Itaipu (UHI) e caracterizadas físico e quimicamente previamente quanto aos parâmetros ambientais de temperatura, potencial hidrogeniônico, sólidos dissolvidos totais, potencial óxido-redução e condutividade elétrica por meio da sonda multiparamétrica. Posteriormente, serão enviadas à Universidade Federal do ABC, onde será realizada e validada a técnica de concentração das amostras de água para detecção do coronavírus, bem como as demais análises físico químicas. Para a concentração das amostras de água superficial será realizado o método de precipitação, conforme descrito por Wu et al. (2020). A extração de RNA será utilizado o Mini Kit PureLink™ Viral RNA/DNA (Thermo Fisher Scientific), de acordo com o protocolo do fabricante. A detecção e quantificação do RNA viral serão realizadas pela técnica de RT-qPCR, de acordo com Claro et al. (2021). As análises de qualidade da água superficial de cor, turbidez, demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico total (COT), nitrogênio total e fósforo total serão realizadas, conforme a Tabela 1. Os dados obtidos durante a caracterização (tanto das águas dos mananciais, quanto do esgoto) também serão submetidos à análise e interpretação para chegar a um diagnóstico de detecção e previsão da possível propagação da COVID-19, baseado em indicadores, resultando, assim, em uma modelagem epidemiológica.

Tabela 1. Metodologias das análises de qualidade da água superficial.

Parâmetro	Unidade	Equipamento (marca, modelo)	Método
Cor	uC	Colorímetro (Policontrol, Aquacolor Cor)	2120 (APHA, 2012)
COT	mg L ⁻¹	Analizador TOC-L (Shimadzu, 5000A)	5310 B (APHA, 2012)
DQO	mg L ⁻¹	Bloco digestor (Marconi, MA 4004); Espectrofotômetro (Hach, DR 5000)	5220-D (APHA, 2012)
Nitrogênio total	mg L ⁻¹	Analizador TOC-L (Shimadzu, 5000A)	5310 B (APHA, 2012)
Fósforo total	mg L ⁻¹	Autoclave Vertical (Primatec,CS); Espectrofotômetro (Hach, DR 5000)	4500-P (APHA, 2012)
Turbidez	UNT	Turbidímetro (Policontrol, AP 2000)	2130 (APHA, 2012)

Já a segunda parte da pesquisa se constituirá na análise de artigos já publicados a respeito do monitoramento do SARS-COV-2 em águas superficiais, agrupando-se as informações para a realização do quadro síntese. A busca de dados ocorrerá através das principais bases de dados (Web of Science, Scopus, Scielo entre outros).

Figura 1- Fluxograma da metodologia proposta



6 Viabilidade

Este projeto tem o suporte de um projeto maior no qual está inserido com a participação de Docentes e Discentes (Doutorandos, Mestrando e Treinamento Técnico), desta forma, há a viabilidade de execução tanto orçamentária quanto técnica.

7 Cronograma de atividades

1. Etapa Inicial
 - a. Processamento e análises das amostras ambientais
 - b. Reunião com toda equipe e apresentação dos resultados parciais
 - c. Treinamento para concentração de amostras pelo método convencional
2. Etapa Parcial
 - a. Realização da revisão bibliográfica - quadro síntese
 - b. Relatório Parcial
3. Etapa Final
 - a. Análise dos dados comparativamente e preparo do quadro síntese para publicação
 - b. Relatório final e participação no Evento de Iniciação Científica.

Tabela 1 – Cronograma de atividades previstas

Etapa	Mês											
	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago
1.a.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1.b.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1.c.			X			X						
2.a.			X			X			X			X
2.b.						X						
3.a.			X			X			X			X
3.b.												X

Referências

APHA, Standard methods for the examination of water and wastewater, 22nd edition edited by E. W. Rice, R. B. Baird, A. D. Eaton and L. S. Clesceri. American Public Health

Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF), Washington, D.C., USA, 2012.

OLIVEIRA, Leonardo Camilo de; TORRES-FRANCO, Andrés Felipe; LOPES, Bruna Coelho; Viability of SARS-CoV-2 in river water and wastewater at different temperatures and solids content. *Water Research*, 195, 2021.

RIMOLDI, Sara Giordana; STEFANI, Fabrizio; GIGANTIELLO, Anna; Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. *Science of the Total Environment*, 744, 2020.

RAZOLLINI, Maria Tereza Pepe; BARBOSA, Mikaela Renata Funada; ARAÚJO, Ronalda Silva de; SARS-CoV-2 in a stream running through an underprivileged, underserved, urban settlement in São Paulo, Brazil: A 7-month follow-up. *Environmental Pollution*, 290, 2021.

MASINDI, Vhahangwele; FOTEINIS, Spyros; NDULI, Kefilwe; AKINWEKOMI, Vhahangwele; Systematic assessment of SARS-CoV-2 virus in wastewater, rivers and drinking water – A catchment-wide appraisal. *Science of the Total Environment*, 800, 2021.

MAHLKNECHT, Jurgen; REYES, Diego A. Padilla; RAMOS, Edrick; The presence of SARS-CoV-2 RNA in different freshwater environments in urban settings determined by RT-qPCR: Implications for water safety. *Science of the Total Environment*, 784, 2021.

KOVALERIC, Stoimir; MICSINAI, Adrienn; SZÁNTÓ-EGÉSZ, Réka; Detection of SARS-CoV-2 RNA in the Danube River in Serbia associated with the discharge of untreated wastewaters. *Science of the Total Environment*, 783, 2021.

HARAMOTO, Eiji; MALLA, Bikash; THAKALI, Ocean; KITAJIMA, Masaaki; First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. *Science of the Total Environment*, 737, 2020.

GUERRERO-LATORRE, Laura; BALLESTEROS, Isabel; VILLACRÉS-GRANDA, Irina; SARS-CoV-2 in river water: Implications in low sanitation countries. *Science of the Total Environment*, 743, 2020.

CLARO, Ieda Carolina Mantovani; CABRAL, Aline Diniz; AUGUSTO, Matheus Ribeiro; Long-term monitoring of SARS-COV-2 RNA in wastewater in Brazil: A more responsive and economical approach. *Water Research*, 203, 2021.

WU, F.; ZHANG, J.; XIAO, A.; GU, X.; LEE, L.; ARMAS, F.; KAUFFMAN, K. SARS-CoV-2 Titers in Wastewater Are Higher than Expected. **mSystems**, v. 5, n. July, p. 1–9, 2020.