



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

MAESTRÍA EN INGENIERÍA AMBIENTAL Y TECNOLOGÍAS SUSTENTABLES



MONITOREO DE LA PRESENCIA DEL VIRUS
SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES DE
ZACATEPEC MORELOS

T E S I S

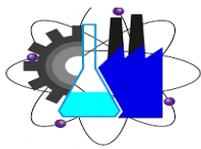
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN INGENIERÍA AMBIENTAL Y
TECNOLOGÍAS SUSTENTABLES**

PRESENTA

I.Q. EDUARDO GARCÍA REYES

ASESOR: DRA. JOSEFINA VERGARA SÁNCHEZ



Facultad de Ciencias
Químicas e Ingeniería

CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO, 2023

AGRADECIMIENTO A CONACyT

El presente Proyecto se llevó a cabo en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales del Municipio de Zacatepec, Morelos, así como en el Laboratorio de Química Analítica y Ambiental del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la asesoría de la Dra. Josefina Vergara Sánchez y el Dr. Hugo Albeiro Saldarriaga Noreña con el apoyo financiero del Programa de Becas Nacionales de Posgrado, otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

COMITÉ REVISOR

DRA. JOSEFINA VERGARA SÁNCHEZ

DR. HUGO ALBEIRO SALDARRIAGA NOREÑA

DR. MARIO ALFONSO MURILLO TOVAR

DRA. FERNANDA MORALES GUZMÁN

DR. CÉSAR TORRES SEGUNDO

DEDICATORIA

Con todo mi cariño y agradecimiento infinito a:

André y Nicolás

Caro

Papá y Mamá

Carlos e Isaac

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por todo el apoyo que me brindó para mi desarrollo profesional y poder alcanzar mis metas las cuales me fijé desde que ingresé a la carrera.

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, por ser mi segundo hogar y mi segunda familia, por todos los momentos compartidos y conocimientos dados por todos sus profesores, y a la cual espero poder devolverle un poco de esos grandes momentos. Gracias infinitas...

A mis profesores

Dra. Josefina Vergara Sánchez: Le doy las gracias por haberme dado la oportunidad de trabajar con usted en este proyecto de investigación. Desde que leí su trayectoria académica me pareció muy interesante y me surgió la inquietud por aprender nuevas cosas en las clases que me impartió, aunque no estuve con usted físicamente, es un gran ejemplo a seguir. Infinitas gracias.

Dr. Roberto Flores Velázquez: Tuve la oportunidad de tomar clases con usted desde la carrera y ahora en el posgrado, siempre fue un gran ejemplo a seguir, aunque no fui un gran alumno, siempre nos impulsaba y aconsejaba para salir adelante, muchas gracias y deseo que continúe por muchos años más compartiendo sus conocimientos con todos los estudiantes.

Dr. Hugo Albeiro Saldarriaga Noreña: Siempre fue muy atento y paciente en todas sus clases, reconozco la gran habilidad que tiene para poder transmitir todos los conocimientos que me fueron de gran ayuda para realizar mi trabajo, gracias por el apoyo que me brindó dentro de su laboratorio y por siempre resolver mis dudas. Muchas gracias.

Dr. Mario Murillo Tovar: Gracias por la paciencia y el apoyo brindado durante mi estancia en este posgrado, siempre fue un profesor muy estricto y eso es algo que admiro. Espero que continúe por muchos años más dentro de este cuerpo académico y en la Universidad. Infinitas gracias.

Dra. Fernanda Morales Guzmán: Siempre la recordaré por ser mi jefa de carrera, muy atenta y divertida, pero a la vez estricta, la estimo mucho y espero poder seguirla viendo dentro de nuestra facultad. Muchas gracias.

A mis compañeros del posgrado:

Pao, Sofi, Silvia, Pati, Dalia, Monse, Julio, Jesús, aunque fueron muy pocas las veces que estuvimos presentes físicamente, fuimos un gran equipo. Siempre tendré un agradable recuerdo suyo y una gran amistad, espero volver a verlos pronto.

Lizeth: gracias por tu gran y sincera amistad, por ti me surgió el interés por los humedales artificiales y su gran importancia que tienen en el medio ambiente, gracias por aquella asesoría de química que me brindaste, me ayudó bastante. Eres una gran persona, siempre tendré un gran recuerdo tuyo.

A mis más grandes tesoros:

André y Nicolás: no tengo palabras para expresar la felicidad que me causa el poder tenerlos, doy gracias a la vida por haberme dado la dicha de ser su papá. Se que no he sido el mejor papá del mundo, y por eso quiero pedirles perdón por los momentos en los que no he podido estar con ustedes y sacrificar nuestro valioso tiempo, me parte el corazón el estar lejos, el no poder llegar a casa y que me pregunten: ¿papá que nos trajiste? ¿Cómo te fue?, espero que puedan comprender que lo he hecho para darles un mejor futuro y que estén bien y que algún día puedan estar orgullosos de mí. Los amo con todo mi corazón.

A mis padres:

Papá, gracias por siempre estar conmigo, gracias por los regaños y los consejos que me has dado, te agradezco las veces que fuiste duro, sé que lo hacías por mi bien. Se que no he sido el mejor hijo del mundo, pero sin duda tu si eres el mejor papá. No sé si alguna vez pueda devolverte todo eso. Gracias por siempre cuidar de mí y de mis hermanos y de cómo enseñarnos a siempre ser humildes con las demás personas. Te amo infinitamente.

Mamá, en cada parte de mi vida siempre me has querido y cuidado desde pequeño, te agradezco infinitamente por todos los momentos que hemos pasado como familia y los muchos que nos faltan, gracias por tus regaños, tus consejos y aunque siempre he sido una persona seria y poco afectiva siempre me has demostrado y enseñado a tratar de ser más cariñoso con todos, por eso y más, muchas gracias, mamá.

A mis hermanos Carlos e Issac, me tocó ser el de en medio y el más “querido”. Tal vez por la diferencia en edades, algunas veces no pudimos compartir tantos momentos como de juegos, travesuras e incluso de peleas, y aunque saben que

no soy muy afectivo, los amo y los quiero con el corazón. Mi admiración siempre para ustedes. Carlos, admiro mucho la forma en que has sabido llevar y afrontar la vida con tus hijas, se los esfuerzos y sacrificios que has realizado por ellas, pero al final todo eso tiene su recompensa, nunca te des por vencido. Isaac, desde que supe que ibas a nacer sentí una enorme felicidad, siempre has sido muy brillante y hasta ahora lo has sabido demostrar, deseo para ti el mejor de los éxitos en tu carrera de medicina y a la vez tu doctorado, eres un gran ejemplo a seguir.

Caro, muchas gracias por acompañarme en todos los momentos buenos y malos, no han sido fáciles. Se que no he sido la mejor persona contigo y te pido perdón por ello, se cuánto has dejado y sacrificado. Gracias por todo tu apoyo, tu cariño, tu confianza, gracias por ser una fiel compañera, una gran persona, pero sobre toda una excelente madre. Deseo que sigamos viviendo más momentos juntos con nuestros hijos. TE AMO.

A mis abuelos Griselda Morales (QEPD), aún siento un dolor enorme por tu partida, pero sé que desde donde quiera que estés me sigues cuidando y queriendo como siempre lo hiciste, Miguel García (Don Migue), muchas gracias abuelito por siempre quererme tanto, y ahora a mis hijos, deseo que estés con nosotros durante muchos años más, Herminia Salgado (QEPD) y Bartolo Reyes (QEPD), eternamente los llevaré en mi corazón y recordaré todos los momentos que compartí con ustedes.

A mis grandes amigos: Mizra, Williams, Marco, Jacob, por todos esos momentos que no ha tocado vivir y pasar, y por los que nos faltan, los quiero.

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. ANTECEDENTES	3
III.1 CARACTERISTICAS DEL VIRUS SARS-CoV-2.....	7
III.2 CONCENTRACIONES DE ARN DE SARS-CoV-2 EN LODOS PRIMARIOS	8
III.3 VIGILANCIA DEL SARS-CoV-2 EN PACIENTES HOSPITALIZADOS POR COVID-19.....	8
III.4 ¿EXISTE RIESGO DE INFECCIÓN POR CORONAVIRUS PRESENTES EN AGUAS RESIDUALES?	10
III.5 FUENTES DE CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES	10
III.6 DETECCIÓN DE LOS CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES	12
III.7 INFECTIVIDAD DE LOS CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES	14
III.8 ¿ES POSIBLE LA PRESENCIA DE SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES Y COMO PODER ELIMINARLO?	16
III.9 PRINCIPALES MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ARN DEL CORONAVIRUS EN LAS AGUAS RESIDUALES.....	20
III.10 DISPOSITIVOS DE PAPEL PARA RATREAR FUENTES DE COVID-19	20
III.11 FACTORES QUE AFECTAN LA DETECTABILIDAD	21
III.12 ELIMINACIÓN DE CORONAVIRUS EN EL PROCESO DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	22
III.13 ESTABILIDAD DEL SARS-CoV-2 EN CONDICIONES AMBIENTALES	23
IV. MARCO TEÓRICO.....	24
IV.1 SARS-CoV-2 PRESENTE EN LODOS RESIDUALES	25
IV.2 EPIDEMIOLOGÍA BASADA EN AGUAS RESIDUALES DEL SARS-CoV-2	26
IV.2.1 TRASMISIÓN DEL SARS-CoV-2 POR AEROSOL Y OBJETOS CONTAMINADOS	28
IV.2.2 TRANSMISIÓN POR GOTAS RESPIRATORIAS Y POR CONTACTO	29
IV.2.3 TRANSMISIÓN AÉREA POR AEROSOL	29
IV.3 PERSISTENCIA DEL SARS-CoV-2 EN MATERIALES, SUPERFICIES Y AIRE.....	30
IV.4 CUANTIFICACIÓN DEL SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES PARA EL MONITOREO Y DISPERSIÓN EN LAS COMUNIDADES	31
IV.5 EFECTOS INDIRECTOS DEL SARS-CoV-2 EN EL MEDIO AMBIENTE	34
IV.6 VIGILANCIA DE SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES Y COMUNIDADES RURALES	35
IV.7 MONITOREO DE SARS-CoV-2 EN LÍNEAS DE ALCANTARILLADO	36

V. JUSTIFICACIÓN	37
VI. HIPÓTESIS	38
VII. OBJETIVOS	38
VII.1 GENERAL	38
VII.2 ESPECÍFICOS	39
VIII. DISEÑO EXPERIMENTAL	39
VIII.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:	40
VIII.2 CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS:	40
VIII.3 EXTRACCIÓN VIRAL	40
IX. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	41
IX.1 SITIOS DE MUESTREO	41
IX.2 TOMA DE MUESTRAS	43
X. MATERIALES Y METODOLOGÍA	43
XI. PROCEDIMIENTO	44
XI.1 ANÁLISIS DE LABORATORIO	44
XI.2 PRECIPITACIÓN VIRAL	44
XII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
XIII. CONCLUSIONES	50
XIV. PERSPECTIVAS	50
XIV.1 DETECCIÓN POST CONFINAMIENTO DE ARN DEL SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES	52
XV. REFERENCIAS	54

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. DETERMINACIONES SEMANALES DE GENOMAS/L DE SARS-COV-2 IDENTIFICADAS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES DE INFLUENTES COMPUESTOS Y MUESTRAS DIARIAS DE AGUAS RESIDUALES DE EFLUENTES (SAGUTI ET AL, 2021).	9
TABLA 2. CORONAVIRUS (COVID-19) EN MATERIA FECAL, REPORTADA POR AMOAH ET AL, 2020.	12
TABLA 3. INFORMES DE CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES Y ALCANTARILLADO (AMOAH ET AL, 2020).	13
TABLA 4. PERSISTENCIA DE VIRUS EN DIFERENTES MEDIOS AMBIENTALES. REPORTADA POR (VARGAS ET AL, 2020).	30
TABLA 5. TIPOS DE GOTAS RESPIRATORIAS Y TRANSMISIÓN POR GOTAS GRANDES RESPIRATORIAS Y POR MICROGOTAS O BIO-AEROSOLES DEL SARS-COV-2 (VARGAS ET AL, 2020).	31
TABLA 6. MONITOREO DE PARÁMETROS DE CAMPO EN LA PTAR DE ZACATEPEC, MOR.	39
TABLA 7. ANÁLISIS DE LAS AGUAS RESIDUALES EN EL EFLUENTE DE LA PTAR ZACATEPEC. RESULTADOS REPORTADOS POR EL LABORATORIO DE PRUEBAS ECCACIV S.A. DE C.V.	42
TABLA 8. RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS APLICADAS DURANTE TODO EL PERIODO DE MUESTREO.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. ESTRUCTURA DEL VIRUS DEL SARS-COV-2. SIB SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS.....	7
FIGURA 2. CANTIDAD RELATIVA DE GENOMAS DEL SARS-COV-2 EN INFLUENTES DE AGUAS RESIDUALES POR SEMANA EN RELACIÓN CON EL NÚMERO DE PACIENTES RECIÉN HOSPITALIZADOS EN GOTEMBURGO (TOMADA DE SAGUTI ET AL, 2021).	9
FIGURA 3. PRESENTACIÓN DEL MARCO TÉCNICO DEL WBE PARA EL SARS-COV-2 BASADO EN LA CUANTIFICACIÓN RELATIVA A TRAVÉS DE PCR, (JINYONG ET AL, 2021).	27
FIGURA 4. EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE NO2 EN CIUDADES DE CHINA, TOMADA DE (ESA, 2020 ^a).	34
FIGURA 5. EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE NO2 EN ALGUNAS REGIONES DE EUROPA, ESA, 2020B.	35
FIGURA 6. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL SITIO DE MUESTREO, PTAR ZACATEPEC. FUENTE: GOOGLE MAPS.	42
FIGURA 7. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS PARA LA PRUEBA DE ANTICUERPOS ACCUTEST.....	43
FIGURA 8. DIAGRAMA DE FLUJO EXPERIMENTAL EN LA DETECCIÓN DEL VIRUS SARS-COV-2 EN AGUAS RESIDUALES	44
FIGURA 9. AGITACIÓN DE MUESTRAS (600 RPM).	45
FIGURA 10. CENTRIFUGACIÓN DE MUESTRAS.	45
FIGURA 11. FILTRACIÓN DE MUESTRAS AL VACÍO.....	45
FIGURA 12. APRECIACIÓN DE RESULTADO POSITIVO EN DOS ANTICUERPOS DETECTABLES PARA SARS-COV-2.....	46
FIGURA 13. CASOS CONFIRMADOS DE COVID-19 EN MORELOS DURANTE EL 2022. REPOSITORIO DE DATOS COVID-19 POR EL CENTRO DE CIENCIA E INGENIERÍA DE SISTEMAS (CSSE) DE LA UNIVERSIDAD JOHNS HOPKINS.....	47

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

1. ARN Ácido Ribonucleico
2. CONAGUA Comisión Nacional del Agua
3. CT Valor umbral de ciclo
4. EPP Equipo de Protección Personal
5. HR Humedad Relativa
6. MBR Biorreactor de membrana
7. MERS Síndrome Respiratorio de Oriente Medio
8. MHV Virus de la Hepatitis Murina
9. NP Isopo Nasofaríngeo
10. OMS Organización Mundial de la Salud
11. PEG Polietilenglicol
12. PTAR Planta Tratadora de Aguas Residuales
13. RT-qPCR Reacción en Cadena de Polimerasa de Transcripción Inversa
14. SARS-CoV-2 Síndrome Respiratorio Agudo Severo-Coronavirus 2
15. TC Tomografía computarizada
16. TRH Tiempo de Residencia Hidráulico
17. WBE Epidemiología Basada en Aguas Residuales

I. RESUMEN

La enfermedad transmitida por el virus del SARS-CoV-2, ha sido una pandemia de rápido esparcimiento que ha impuesto medidas extremas de contención en todo el mundo. Hasta hace poco, en ausencia de una vacuna o un tratamiento efectivo, se desarrollaron rápidamente estrategias de vigilancia epidemiológicas rentables. En este trabajo se ha utilizado como herramienta de vigilancia un dispositivo a base de papel para la detección de anticuerpos virales de SARS-CoV-2 en una serie de muestras de aguas residuales municipales, recolectadas en el periodo comprendido de marzo de 2021 a abril de 2022 durante el pico de la pandemia en el Municipio de Zacatepec de Hidalgo Morelos. Fue posible detectar eficientemente los anticuerpos virales del SARS-CoV-2 cuando los casos en esta región iban en aumento. Los resultados de esta investigación sugieren que el análisis de aguas residuales puede ser una estrategia sensible y rentable para la vigilancia epidemiológica de COVID-19. La implementación rutinaria de esta herramienta de vigilancia mejoraría significativamente la preparación y respuesta contra nuevos brotes virales o recurrentes.

La epidemiología basada en aguas residuales (WBE), proporciona información de salud integral a nivel comunitario. Es un enfoque utilizado para monitorear la presencia de patógenos que pueden representar un problema de salud pública. Durante la pandemia de COVID-19, se ha informado sobre la vigilancia de aguas residuales mediante el análisis de rastros de ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales en muchos lugares del mundo.

ABSTRACT

The disease transmitted by the SARS-CoV-2 virus has been a rapidly spreading pandemic that has imposed extreme containment measures around the world. Until recently, in the absence of an effective vaccine or treatment, cost-effective epidemiological surveillance strategies were rapidly developed. For this study, a paper-based device has been used as a surveillance tool for the detection of SARS-CoV-2 viral antibodies in a series of municipal wastewater samples, collected in the period from March 2021 to April 2021. 2022 during the peak of the pandemic in the Municipality of Zacatepec de Hidalgo Morelos. It was possible to efficiently detect SARS-CoV-2 viral antibodies when cases in this region were increasing.

With this research, it is suggested that wastewater testing may be a sensitive and cost-effective strategy for epidemiological surveillance of COVID-19. Routine implementation of this surveillance tool would significantly improve preparedness and response against new or recurrent viral outbreaks.

Wastewater-based epidemiology (WBE) provides comprehensive health information at the community level. It is an approach used to monitor the presence of pathogens that may represent a public health problem. During the COVID-19 pandemic, wastewater surveillance by analyzing trace RNA of SARS-CoV-2 in wastewater has been reported in many locations around the world.

II. INTRODUCCIÓN

Hoy en día es un desafío proporcionar agua potable a la población de manera salubre y asequible, esto debido al crecimiento demográfico, a las malas prácticas de su uso y a las dificultades técnicas, lo que conlleva a riesgos potenciales para la salud humana. La calidad del agua potable se ve afectada por el contacto con residuos humanos, nutrientes y productos químicos. La organización mundial de la salud estima que aproximadamente el 10% de la población mundial no tiene acceso a fuentes de agua potable, (OMS 2020). La contaminación del agua debido a agentes patógenos, productos químicos tales como pesticidas y desinfectantes, metales pesados, entre otros, se ha convertido en un peligro para la salud humana en varias regiones del mundo; es por eso la importancia de realizar un diagnóstico de calidad de agua potable y aguas residuales para comparar con los límites máximos permisibles en la normatividad oficial. La vigilancia ambiental contribuye a la protección de la salud de la población fomentando el mejoramiento de la calidad, cantidad, cobertura, costo y continuidad de los suministros de agua (Medema et al, 2020).

Desde el inicio de la nueva enfermedad por Coronavirus en 2019, la rápida transmisión y propagación global de la misma ha ejercido una presión significativa sobre las agencias de salud pública en todo el mundo. La detección del ARN del SARS-CoV-2 en muestras de hisopo nasofaríngeo (NP) mediante la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa de transcripción inversa (RT-qPCR) es la prueba diagnóstica estándar para confirmar el COVID-19. La medición precisa de la prevalencia de COVID-19 en muchos países se ha

complicado por las pruebas de NP limitadas y/o sesgadas (dirigidas a grupos sintomáticos) y un periodo infeccioso asintomático o levemente sintomático en una proporción significativa de casos (Long et al, 2020). En 2020, se informó por primera vez la detección de ARN viral del SARS-CoV-2 en aguas residuales ubicadas en siete ciudades diferentes de los Países Bajos (Medema et al, 2020).

III. ANTECEDENTES

La contaminación y la escasez del agua, ha dado lugar al uso creciente de las aguas residuales para las diferentes actividades de la población, tales como la agricultura, la acuicultura, la recarga de acuíferos entre otras. En algunos casos, la población no cuenta con una fuente de abastecimiento de agua potable, y las aguas residuales son el único recurso hídrico con el que cuentan por lo cual se ven en la necesidad de utilizarlas para realizar sus actividades cotidianas (CONAGUA, 2020).

El uso de las aguas residuales en la agricultura puede aportar muchos beneficios (incluidos a la salud como una mejor nutrición y provisión de alimentos para muchas viviendas), sin embargo, su uso no controlado generalmente está relacionado con impactos significativos sobre la salud humana. Actualmente, se sabe que los principales contaminantes biológicos del agua están presentes como sólidos suspendidos, nutrientes y los microorganismos como bacterias, parásitos y virus. Los virus se transmiten a través de diferentes vías como son el agua y los alimentos, destacando aquellos que se consumen crudos. La ruta fecal-oral es la principal vía de transmisión y propagación de virus, los cuales al ser descargados son dispersados al medio acuático, y el contacto con ellos podría ser de alto riesgo de infección para la población que esté en contacto con este medio, no obstante, el tratamiento inadecuado de las aguas residuales contribuye en gran parte la presencia de virus en matriz ambiental (Medema et al, 2020).

Actualmente, se ha detectado la presencia de uno de los virus más potenciales y dañinos para la salud humana: SARS-CoV-2 en efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales y redes de alcantarillado en varios países incluidos Francia, Italia, Holanda, Estados Unidos de América y México. Aunque se ha demostrado la presencia de este virus en el medio acuático, no existe un método sólido para su detección y cuantificación en aguas residuales, por lo que

se deben llevar a cabo exhaustivas investigaciones a fin de poder tener un resultado más preciso sobre su capacidad infectiva en este medio.

La identificación sobre la detección y cuantificación del ARN viral del SARS-CoV-2 continúa a buen ritmo en muchos aspectos del correcto uso de la vigilancia de aguas residuales y de cómo los datos generados se pueden utilizar en la toma de decisiones de salud pública local. Los primeros estudios de vigilancia de aguas residuales del SARS-CoV-2 se llevaron a cabo en los países bajos, y se detectó material genético viral en muestras de influentes de plantas de tratamiento de aguas residuales en algunas ciudades de Holanda, (Medema et al, 2020).

Un caso de infecciones por SARS registrado en un bloque de apartamentos en la Ciudad de Hong Kong, afirmó el rol del sistema de aguas residuales y las redes de alcantarillado en la propagación de infecciones, (OMS, 2003). Esto demostró que el virus se propaga a través de gotitas de aguas residuales contaminadas con SARS-CoV y, que la exposición y contacto con las aguas residuales que contienen coronavirus infecciosos puede favorecer a la propagación del virus. Además, aquellas instalaciones como las plomerías y líneas de drenaje defectuosas que descargan aguas residuales no tratadas en la comunidad pueden ser otra ruta de transmisión. Las fallas en las redes de alcantarillado, ya sean estructurales o hidráulicas, pueden llevar mucho tiempo antes de las reparaciones, lo que podría incrementar los riesgos. También, la descarga de aguas residuales no tratadas directamente a cuerpos de agua superficiales podría potencialmente conducir a la exposición del público en general. Esto es sumamente crítico en áreas donde las plantas de tratamiento de aguas residuales presentan grandes deficiencias, lo que resulta en la aparición de patógenos en el efluente de descarga, (OMS, 2003).

La detección de SARS-CoV-2 en redes de alcantarillado puede llegar a ser fundamental en las etapas iniciales de propagación. Además, la detección temprana en una comunidad reduce la tasa de contagio y evita la sobresaturación de los sistemas de salud. Se ha identificado hasta ahora que las pruebas más comunes para detectar virus en humanos son la tomografía computarizada (TC) de tórax y la reacción en cadena de polimerasa de transcripción inversa (RT-qPCR), que se basa en la multiplicación de ácidos nucleicos presentes en el virus, que hacen que la prueba sea precisa, ya que confirma la presencia de material genético del SARS-

CoV-2 en una persona, un medio o un objeto. Además, aplicando esta técnica se pueden cuantificar las unidades genómicas del virus. Este ensayo se realiza para detectar diferentes regiones del genoma en fluidos humanos como rino-faríngeos, orofaríngeos, así como muestras fecales, superficiales y aguas residuales. Las regiones genéticas del SARS-CoV-2 detectadas incluyen el gen de la proteína de la envoltura (E), el gen de la proteína de la nucleocápside (N) y el gen de la ARN polimerasa dependiente (RdRp), (Cervantes, 2020).

Otra técnica también utilizada es la PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa) digital de gotitas, y se ha aplicado para cuantificar el SARS-CoV-2 en aguas residuales. En términos de sensibilidad, se encontró que esta técnica ha mostrado niveles altos, así como especificidad en comparación con RT-qPCR, para el diagnóstico de COVID-19 en muestras de hisopos rino-faríngeos falsos negativos con baja carga viral, (Falzone et al, 2020).

En la actualidad, la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa, se utiliza para detectar el ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales. La mayoría de ellos adoptan la cuantificación absoluta, y el estándar de genes del virus (normalmente un plásmido con genes SARS-CoV-2), es necesario para construir la curva estándar, (Medema et al, 2020). La cuantificación absoluta de la concentración real de ARN del virus en aguas residuales, que puede correlacionarse con observaciones clínicas locales. Estos datos proporcionan información limitada para monitorear la tasa de infección real en la comunidad. Varios factores afectan la precisión de la estimación cuantitativa absoluta de la relación de infección de la comunidad o dificultan la comparación lateral entre diferentes regiones. Por ejemplo, en el sistema de alcantarillado combinado, el efecto diluyente de la lluvia afectará la concentración de viriones en las aguas residuales. Además, la tasa de generación de aguas residuales está en el rango de 50-500 L/persona/día, lo que fluctúa con las estaciones y afecta la concentración de virus en las aguas residuales. Además, para estimar la tasa de infección en una comunidad, es necesario medir con precisión la población de la comunidad, es decir, la normalización de la población para los datos (Polo et al, 2020).

La Epidemiología Basada en Aguas Residuales presenta desafíos en su implementación así como en el monitoreo comunitario de COVID-19, ya que como se ha mencionado antes, no existen métodos y procedimientos normalizados. Entre ellos, la recuperación del virus a partir de muestras de aguas residuales es el primer y más importante paso. Actualmente, y como se

ha mencionado en diferentes investigaciones, los principales métodos de concentración de virus para el SARS-CoV-2 en muestras de aguas residuales son la precipitación con Polietilenglicol (PEG), la adsorción de membrana electronegativa y la ultrafiltración, entre otras (Medema et al, 2020), (Buitrón et al, 2020). Estos métodos de concentración de virus en aguas residuales están más dirigidos a la recuperación de partículas virales del sobrenadante de estas aguas que han sido pretratadas para eliminar sólidos y bacterias en suspensión. Algunos estudios reportados, el virus adsorbido en las partículas de aguas residuales no puede descuidarse e incluso puede representar la mayor parte del SARS-CoV-2 en las aguas residuales, (Balboa et al, 2020), (D'Aoust et al, 2020).

El valor más alto del contenido de virus jamás detectado en muestras relacionadas con aguas residuales proviene de los lodos primarios de aguas residuales, y el valor es tan alto como 4.6×10^8 copias de ARN/L, (Peccia et al, 2020). Sin embargo, no se recomienda usar directamente la abundancia de ARN del virus en el lodo primario de aguas residuales para estimar la relación de infección de la comunidad, se debe considerar el tiempo de retención de lodos o la distribución del tiempo de residencia. En consecuencia, se sugiere que el ARN del virus de las muestras de aguas residuales, tanto en fase sólida como líquida, debe considerarse en la vigilancia de las aguas residuales.

La relación de infección de las comunidades en la cuenca de aguas residuales se puede calcular a partir de la abundancia relativa del gen del virus objetivo. La premisa es determinar la abundancia relativa promedio del gen del virus objetivo en las heces de la persona infectada (Jinyong, et al, 2021). Se ha informado que no todas las personas infectadas son positivas para el ARN del SARS-CoV-2 en sus heces, la cantidad de diseminación del virus en las heces varía de persona a persona, lo que también fluctúa a lo largo del periodo de infección (Wolfel et al, 2020). Para incorporar estos factores en consideración, el intervalo de la relación de infección debe estimarse a través del modelo de Monte Carlo, (Ahmed, et al, 2020). Además, la cinética de descomposición y la eficiencia de recuperación del virus y el biomarcador de referencia de las aguas residuales también son factores que deben tenerse en cuenta, así como los factores relacionados con la bioseguridad. Algunas investigaciones realizadas en Italia y Alemania han demostrado que la infectividad del SARS-CoV-2 en las aguas residuales es limitada (Rimoldi et al, 2020, Westhaus et al, 2020). Sin embargo, la

posibilidad de transmisión fecal-oral no se puede descartar por completo. Además, parece que el SARS-CoV-2 se puede eliminar eficazmente en el proceso de tratamiento de aguas residuales. Investigaciones en China, España, India e Italia han detectado el ARN del SARS-CoV-2 en el influente de plantas de tratamiento de aguas residuales, pero no en el efluente. Es decir, la ubicación del muestreo puede afectar la detectabilidad del virus así como los procesos a los que son sometidas las aguas residuales (Kumar et al, 2020, Randazzo et al, 2020).

III.1 CARACTERISTICAS DEL VIRUS SARS-CoV-2

Como se ha mencionado con anterioridad, el SARS-CoV-2 pertenece a la familia de los β -coronavirus, los cuales son virus de ácido ribonucleico (ARN) de cadena simple, polaridad positiva, envueltos, no segmentados, con genoma de 27 a 32 kb y tamaño de 80-160 nm. Son los virus más grandes de ARN hasta ahora descubiertos y pertenecen al grupo IV de la clasificación de Baltimore, (Aguilar Gómez, 2020). En la figura 1 se muestra la estructura del SARS-CoV-2. Se conocen hasta ahora cuatro géneros y se distinguen por el huésped al que infectan: *α -coronavirus*: mamíferos, *β -coronavirus* (subdivididos en los grupos A-D): mamíferos, *γ -coronavirus*: aves, peces, y, por último, *δ -coronavirus*: aves, (Cui J, 2019). Los tres coronavirus que afectan al humano y que tienen elevada patogenicidad son: Síndrome Respiratorio Agudo Severo-1 (SARS-CoV-1), Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS) y Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2), los cuales se han caracterizado por asociarse a enfermedad grave. (Cui J, 2019).

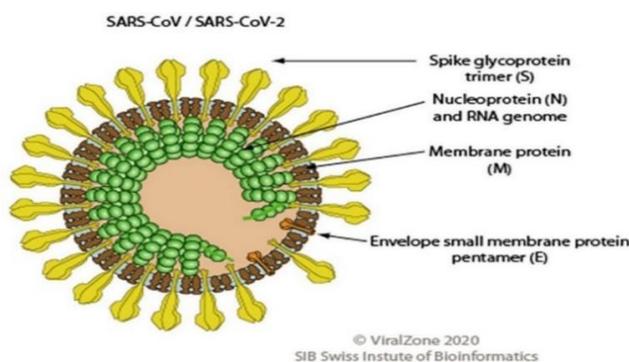


Figura 1. Estructura del virus del SARS-CoV-2. SIB Swiss Institute of Bioinformatics

III.2 CONCENTRACIONES DE ARN DE SARS-CoV-2 EN LODOS PRIMARIOS

El lodo primario de una muestra mezclada y concentrada puede ser de gran ayuda para monitorear la propagación comunitaria de SARS-CoV-2. La eliminación viral puede ocurrir antes de que se detecten los casos. Peccia et al, 2020, plantearon la hipótesis de que el curso temporal del ARN del SARS-CoV-2 en lodos primarios es un indicador principal de la dinámica de brotes dentro de una comunidad atendida por una Planta de Tratamientos.

Durante el brote de COVID-19 del 19 de marzo al 01 de mayo de 2020 en New Haven, Connecticut, área metropolitana de Estados Unidos (Peccia et al, 2020), recogieron muestras diarias de lodos primarios de una Planta de Tratamientos que sirve a aproximadamente 200,000 habitantes. Las concentraciones de ARN se compararon cuantitativamente con los datos de admisión del hospital local y datos de prueba recopilados de la comunidad. El ARN viral fue detectado en muestras de lodos analizadas y oscilaron entre 1.7×10^3 copias/mL⁻¹ a 4.6×10^5 copias/mL. En general, el 96.5% de todos los valores obtenidos fueron inferiores a 38, y los valores entre 38 y 40 se informaron como positivos si la detección se produjo con los conjuntos de cebadores N1 y N2 de la nucleocápside del virus y ambas réplicas. El muestreo durante el brote de COVID-19 en New Haven sugiere que estos datos pueden proporcionar información epidemiológica útil.

III.3 VIGILANCIA DEL SARS-CoV-2 EN PACIENTES HOSPITALIZADOS POR COVID-19

Un estudio realizado por Saguti et al, 2021 en Gotemburgo, Suecia, tomaron muestras de aguas residuales en una planta de tratamiento de aguas residuales de Rya que recibe las aguas de aproximadamente 800,000 habitantes de la región. Esta Planta de Tratamientos recibe también aguas provenientes de la industria y de la infiltración/entrada de las partes más antiguas de la ciudad. Tomaron muestras diarias proporcionales al flujo de aguas residuales para garantizar que la cantidad de aguas residuales de cada hogar fuera comparable entre los periodos de muestreo, ya que la variación en el flujo de efluentes depende en gran medida de la cantidad de precipitación (tabla 1).

Tabla 1. Determinaciones semanales de genomas/L de SARS-CoV-2 identificadas en muestras de aguas residuales de influentes compuestos y muestras diarias de aguas residuales de efluentes (Saguti et al, 2021).

Semana de muestreo	Fecha de muestreo (2020)	Q(m ³ /s)	Volumen analizado (L)	Cantidad de aguas residuales del SARS-CoV-2/L (log ₁₀)	Cantidad relativa de SARS-CoV-2
7	10-16 Febrero	7.75	2.65	<3	NA
8	17-23 Febrero	8.46	2.91	4.23	5.7
9	24 Marzo	6.12	2.09	<3	NA
10	03-09 Marzo	4.78	1.65	<3	NA
11	10-16 Marzo	7.09	3.22	3.90	1
12	17-23 Marzo	5.12	1.90	4.90	16
13	24-30 Marzo	3.37	1.00	5.61	16
14	31 Abril	3.22	1.13	6.27	82

(Fredy Saguti E. M., 2021) realizaron un ensayo de sensibilidad en donde la cantidad de coronavirus humano en 100 µL de una solución madre se determinó mediante RT-qPCR de diluciones seriales de 10 pasos después de la extracción de ácido nucleico con el kit D Neasy Blood and Tissue, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La RT-qPCR se realizó con cebadores y sondas, determinaron la sensibilidad del ensayo a los coronavirus concentrados 2.1×10^{11} . Los equivalentes genómicos del coronavirus humano 229E se agregaron a 1 L de aguas residuales y se filtraron a través de un filtro Nano-Ceram. Los picos del SARS-CoV-2 en las aguas residuales precedieron a los picos de número de pacientes hospitalizados con COVID-19 en el hospital universitario Sahlgrenska durante varias semanas, figura 2.

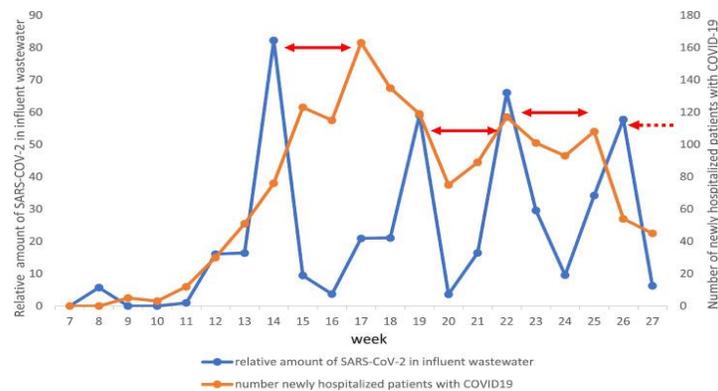


Figura 2. Cantidad relativa de genomas del SARS-CoV-2 en influentes de aguas residuales por semana en relación con el número de pacientes recién hospitalizados en Gotemburgo (Tomada de Saguti et al, 2021).

III.4 ¿EXISTE RIESGO DE INFECCIÓN POR CORONAVIRUS PRESENTES EN AGUAS RESIDUALES?

Definitivamente, si existe un riesgo de contagio por partículas virales del SARS-CoV-2 para las personas que están en contacto directo con aguas residuales. Un estudio realizado por Lee et al, 2020, afirmaron que el “SARS-CoV-2 tiene una dosis infecciosa baja”; sin embargo, las cargas virales en las aguas residuales aún podrían representar un gran riesgo para los trabajadores de las PTAR y cualquier persona expuesta directamente a las aguas negras a través de tuberías o redes de alcantarillado. A pesar de estas afirmaciones, hasta la fecha no hay evidencia de la transmisión de COVID-19 por la exposición a aguas residuales (Lee et al, 2020).

III.5 FUENTES DE CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES

En los últimos 17 años, ha habido tres brotes importantes causados por coronavirus humanos. Esto incluye al síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) que surgió en 2003 en China y afectó a 26 países. El segundo brote de coronavirus humanos causado por el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) ocurrió en 2012, afectando a 27 países con más de 2400 casos a finales de 2019 (OMS, 2020).

La aparición simultánea de diferentes coronavirus en el mismo entorno puede contribuir a la aparición de nuevas cepas de este virus mediante recombinación (Hemida et al, 2019). Este grupo de virus tiene el potencial de crecer en las células epiteliales y generalmente causa infección respiratoria, de ahí los nombres coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo o coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio. Durante el brote actual de COVID-19, la evidencia sugiere que del 2 al 35% de los pacientes tienen síntomas gastrointestinales, como diarrea, dolor abdominal y vómitos, aunque es menos frecuente en comparación con los síntomas respiratorios (Medema et al, 2020).

Esto ha llevado a la detección del ARN viral en heces y aguas residuales, (Amirian, 2020), (Rimoldi S. S., 2020). Por lo tanto, la información sobre la persistencia de coronavirus en las aguas residuales es importante, especialmente para comprender los riesgos potenciales para las poblaciones expuestas. Sin embargo, la ruta principal que se ha informado ampliamente es a través de la eliminación del ARN viral en las heces de los individuos infectados, (Chen

et al, 2020), (Ling et al, 2020). Se ha observado en pacientes, síntomas de infecciones gastrointestinales, como malestar abdominal, diarrea, hemorragia, náuseas y vómitos, lo que indica infección del tracto gastrointestinal, (Yang et al, 2020), (Wan et al, 2020).

Varios estudios reportaron cierto éxito en la detección e incluso cuantificación del ARN del SARS-CoV-2 por RT-qPCR en aguas residuales en el transcurso de brotes comunitarios de COVID-19, la escasa sensibilidad del ensayo y la variación sistemática representan desafíos significativos, particularmente en regiones con baja prevalencia de COVID-19 (Bar-On et al, 2020), Michael-Kordatou et al, 2020). Específicamente, el monitoreo en comunidades con baja incidencia ha demostrado altos valores de carga viral en PCR y, por lo tanto, datos variables o no cuantificables que se están recopilando debido a las concentraciones muy bajas de fragmentos virales en las aguas residuales. En este sentido, al menos dos grupos han identificado una mayor sensibilidad en muestras de aguas residuales ricas en sólidos recolectadas en efluentes de plantas de tratamiento en comunidades con baja incidencia y prevalencia (<25 casos activos / 100,000 habitantes), (Balboa et al, 2020).

La evidencia sugiere que las infecciones gastrointestinales por SARS-CoV y SARS-CoV-2 en humanos están mediadas por el receptor celular de la enzima convertidora de angiotestina 2 (ACE2) (Yeo et al, 2020), Wang et al, 2020). La enzima ACE2 se encuentra principalmente adherida a las membranas celulares de las células de los pulmones, las arterias, el corazón, los riñones y los intestinos. La afinidad de unión de los receptores ACE2 se ha observado como el factor más importante para la infectividad del virus. El análisis estructural indica que el SARS-CoV-2 usa el receptor ACE2 humano de manera más eficiente que el SARS-CoV, (Yeo et al, 2020). Esta puede ser otra razón para la propagación más rápida del SARS-CoV-2. (Wang y col, 2020), informaron que algunos pacientes presentaron infecciones gastrointestinales (diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal), sin embargo, datos oficiales de la Organización Mundial de la Salud reportaron que entre el 2 y el 27% de los pacientes con COVID-19 presentaron infección estomacal. Por lo tanto, la detección de coronavirus en las heces de personas infectadas no es sorprendente, según las infecciones gastrointestinales notificadas. En la tabla 2 reportada por (Amoah et al, 2020), se informa ARN de coronavirus en muestras de heces en diferentes ubicaciones geográficas. Sin embargo, no está claro cuánto tiempo continúa el desprendimiento de partículas virales. Estudios reportados por

(Amirian, 2020), (Ling et al, 2020), (Xiao, et al, 2017), han sugerido que se puede encontrar ARN en las heces desde el día 1 hasta el día 25 después del inicio de la enfermedad gastrointestinal.

Tabla 2. Coronavirus (COVID-19) en materia fecal, reportada por (Amoah et al, 2020).

Virus	Muestra	Métodos de detección	Localización	Referencia
SARS-CoV	Heces y orina	Cultivo en monocapa celular y confirmado con RT-PCR.	Hong Kong	Chan, et al.,2004
	Heces y orina	Cultivo en monocapa celular y confirmado con microscopía electrónica y RT-PCR.	Beijing, China	Xu et al., 2005
	Heces y orina	RT-PCR	Hong Kong	Cheng et al., 2004
MERS-CoV	Orina	RT-PCR	Francia	Poissy et al., 2014
	Heces y orina	RT-PCR y secuenciación	Alemania	Drosten et al., 2013
SARS-CoV-2	Heces y orina	RT-PCR y cultivo celular	Arabia Saudita	Corman et al., 2016
	Heces	RT-PCR	Jinhua, China	Zhang et al., 2020
	Heces	RT-PCR y secuenciación	Singapur	Young et al.,2020
	Heces	RT-PCR	Shanghái, China	Ling et al., 2020
	Heces	RT-PCR	Wuhan, China	Chen et al., 2020
	Heces	RT-PCR	Corea	Park et al., 2020

III.6 DETECCIÓN DE LOS CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES

Diversos estudios sobre la aparición de virus en aguas residuales se han enfocado en virus entéricos (sin envoltura), como adenovirus, poliovirus, enterovirus, norovirus y rotavirus. Esto se debe principalmente a que se transmiten a través de la ruta fecal-oral. Sin embargo, la presencia de virus envueltos como los coronavirus en las aguas residuales podría diferir mucho debido a las diferencias en su comportamiento de supervivencia en el agua, así como las condiciones ambientales. Las primeras investigaciones sobre ARN de SARS-CoV en las aguas residuales se realizaron por (Wang et al, 2003) en el hospital Xiao Tang Shan y el

hospital 309 del PLA, los hospitales designados para recibir pacientes con SARS en Beijing durante el brote de 2003. Algunos estudios han informado la detección de coronavirus en aguas residuales tratadas y sin tratar, (Tabla 3). Estos estudios se han centrado principalmente en la detección sin cuantificación, por lo que es un desafío comparar la concentración del genoma viral entre ellos.

Uno de los factores que influye en la aparición de coronavirus en las aguas residuales es la cantidad de ARN viral por gramo de heces de una persona infectada. Haas et al., 2014, informó que la concentración de partículas virales entéricas por gramo de heces durante una enfermedad gastrointestinal es de 10^{10} - 10^{12} copias/mL. Además el uso de agua per cápita podría afectar la concentración de virus detectados en las aguas residuales. Las horas pico (mañanas y tardes), están asociados con un mayor consumo de agua doméstica, esto podría resultar en una dilución, es decir, reducción de las concentraciones de carga viral. La supervivencia de coronavirus en el medio ambiente puede ser otro factor a tomar en cuenta en su ocurrencia en las aguas residuales. Lo reportado hasta ahora, es que los coronavirus pueden sobrevivir solo unos pocos días en el medio ambiente (Kampf et al, 2020).

Tabla 3. Informes de coronavirus en aguas residuales y alcantarillado (Amoah et al, 2020).

Virus	Muestra	Método de detección	Localización	Referencia
SARS-CoV	Aguas residuales	RT-PCR	Estados Unidos	Wang et al., 2005
SARS-CoV-2	Aguas residuales	RT-PCR	Países bajos	Medema et al., 2020
SARS-CoV-2	Aguas residuales tratadas y no tratadas	RT-PCR	Países bajos	Randazzo et al.,2020
SARS-CoV-2	Aguas residuales y lodos	RT-PCR	España	Balboa et al., 2020
SARS-CoV-2	Lodos primarios	RT-PCR	Estados Unidos	Peccia et al., 2020
SARS-CoV-2	Lodos activados	RT-PCR	Estambul	Kocamemi et al.,2020

III.7 INFECTIVIDAD DE LOS CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES

La infectividad de los coronavirus en las aguas residuales también podría verse afectada. Casanova et al, 2009, indicó que se necesitan de 7 a 9 días para una reducción del 99% en el genoma viral infeccioso a 25 °C. Los informes sobre la aparición de SARS-CoV-2 en las aguas residuales se basan principalmente en la detección de ácidos nucleicos (ARN). La supervivencia de los coronavirus y otros virus en las aguas residuales podría verse influida por varios factores. Estos factores pueden ser intrínsecos o externos, según las aguas residuales o las condiciones ambientales que se mencionan a continuación:

- Estructura viral: se ha descubierto que los virus con envoltura, como el coronavirus, tienen periodos de supervivencia más cortos en comparación con los virus sin envoltura y son consistentes con la supervivencia de los fagos, (Gundy et al, 2009). El menor tiempo de supervivencia de los virus con envoltura puede deberse a la acción de enzimas proteolíticas y detergentes sobre la envoltura lipídica externa del virus. Además, el ARN monocatenario es extremadamente frágil y puede ser degradado rápidamente por las ARNasas abundantes en la naturaleza, (Brisebois et al, 2018). Por lo tanto, al ser un virus de ARN monocatenario, los coronavirus pueden degradarse fácilmente en las aguas residuales.
- Características/composición de las aguas residuales: la comparación de la inactivación o supervivencia de los coronavirus sugiere que las características/composición de las aguas residuales pueden jugar un papel importante en su supervivencia . la inactivación más rápida de coronavirus en aguas residuales podría atribuirse a la presencia de productos químicos con actividad antiviral, (Sobsey et al, 2003), enzimas proteolíticas producidas por bacterias, depredación de protozoos y metazoos en las aguas residuales.
- Temperatura: se ha descubierto que tiene una mayor influencia en la supervivencia de los coronavirus en las aguas residuales. (Wang et al, 2005), usaron SARS-CoV sembrado en aguas residuales, y observaron que los virus permanecen infecciosos durante 14 días a 4 °C, pero solo 2 días a 20 °C. Este hallazgo muestra que en las regiones templadas o más frías, los coronavirus pueden sobrevivir más tiempo en las aguas residuales en comparación con las regiones tropicales.

- pH: Existe una falta de información sobre el impacto del pH en la supervivencia de los coronavirus. Se considera que un rango de pH de 5 a 7.4 a 37°C y de 3 a 10 a 4°C es el rango estable para MHV, (Casanova et al, 2009). Se ha demostrado que el pH ácido da como resultado la desnaturalización ácida reversible del ARN, a través de la protonación de pares de bases de GC y la consiguiente formación de pares de bases de Hoogsteen, (Mariani et al, 2018). Además del impacto de la estabilidad viral, el pH influye en la supervivencia viral a través de la adsorción de partículas en las aguas residuales.

Se han utilizado otros métodos moleculares para la detección de ARN de coronavirus en muestras clínicas, como hisopos faríngeos, que incluyen amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) de transcripción inversa (RT), (Park et al, 2020), (Lamb et al, 2020). Este método ha mostrado un gran potencial para detectar estos virus en muestras clínicas, produciendo resultados en menos de una hora, en algunos casos en 11 minutos, dependiendo la carga viral. Otra técnica molecular utilizada para la detección de coronavirus en muestras clínicas y de aguas residuales es la PCR de gotitas digitales. Esto ha demostrado tener un límite inferior de detección mejorado, más sensible y preciso en comparación con la RT-PCR para muestras ambientales, (Lu et al, 2020). Por lo tanto, el uso de dPCR puede ayudar a reducir los falsos negativos y positivos, especialmente en muestras con un título viral bajo, como las aguas residuales.

Un estudio realizado por (Kampf et al, 2020), sobre la supervivencia de coronavirus en superficies, mostró que estas partículas virales infecciosas pueden sobrevivir hasta nueve días a temperatura ambiente. sin embargo, se pueden inactivar fácilmente en un minuto usando etanol al 62-71%, peróxido de hidrógeno al 0.5% o hipoclorito de sodio al 0.1%. Además de las partículas virales depositadas en formitas/superficies de contacto dentro de la PTAR, puede ocurrir una exposición directa a las partículas virales durante la remoción y el transporte de lodos primarios y secundarios.

Algunas PTAR no cuentan con instalaciones para el tratamiento de lodos en el sitio, lo que requiere la recolección y transporte de los lodos para su tratamiento fuera del sitio. Se ha notificado la aparición de coronavirus humanos en los lodos tratados y lodos sin tratar, Bibby y col, 2011. Por lo tanto, esto podría ser otra vía de exposición importante para los

trabajadores de las PTAR, sumando la falta de prácticas higiénicas adecuadas y el uso de EPP.

(Rimoldi et al, 2020), detectaron al ARN de SARS-CoV-2 en aguas superficiales, lo que atribuyeron a la descarga de desechos domésticos no recolectados o la escorrentía urbana de los efluentes domésticos. Sin embargo, no se encontró ninguna partícula viral viable en base a cultivos celulares, lo que indica la posible ausencia de riesgos de infecciones del agua superficial. Hasta ahora, existen numerosos informes sobre la detección de virus en plantas de tratamiento de aguas residuales, incluyendo Norovirus, Sapovirus, Virus de la Hepatitis A, Adenovirus, Entorivirus, entre otros, (Ehlers 2005), (Taboada-Santos 2020).

III.8 ¿ES POSIBLE LA PRESENCIA DE SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES Y COMO PODER ELIMINARLO?

Se requiere de una técnica estandarizada para extraer y cuantificar el ARN viral en una matriz compleja y, en particular, para evaluar su patogenicidad. Como se ha mencionado, el SARS-CoV-2 puede llegar al sistema de alcantarillado a través de las heces y, posiblemente la orina, además de otros sólidos presentes. (Ahmed et al, 2020), investigaron la presencia del virus en la Ciudad de Brisbane (Australia) en el periodo del pico de la pandemia, detectando dos muestras con concentración viral baja (1.2 y 1.9 copias/100 mL de muestra, respectivamente) y comparables a los que tiene el virus en heces y orina. Todos estos estudios confirman claramente que, el virus puede estar presente en aguas residuales. Sin embargo, se requiere investigar el impacto de las condiciones externas, como la temperatura, el pH y el tiempo de retención, en la supervivencia del SARS-CoV-2 en el medio acuático.

Sin embargo, se pueden adelantar algunas consideraciones preliminares sobre el comportamiento ambiental del virus. (Hart et al, 2020), estimaron cuantitativamente la presencia del virus en aguas residuales en las áreas infectadas a partir de datos epidemiológicos y asumiendo una tasa de decaimiento exponencial, sustancialmente influenciada por la temperatura, aunque su papel real, así como los posibles efectos sinérgicos con otros factores, deben explorarse más a fondo. Otro aspecto interesante es que el SARS-CoV-2 pertenece a la familia de los coronavirus, al igual que el SARS-CoV. Después de la epidemia de SARS de 2003-2004, se realizaron algunas pruebas para evaluar la supervivencia

del virus en entornos hostiles. (Wang et al, 2005), investigaron el tiempo de inactivación en aguas residuales urbanas y hospitalarias bajo diferentes condiciones de temperatura. En ambos casos a bajas temperaturas (4 °C) el virus mantuvo su vitalidad hasta 14 días, mientras que se inactivó sólo después de 2 días a temperaturas más altas (20 °C). Los coronavirus redujeron la supervivencia a temperaturas superiores a 20 °C, también fue demostrado por (Gundy et al, 2009), quienes observaron una inactivación del 99% de HCoV-229E (23 °C) después de 2.36 y 1.85 días en aguas residuales urbanas después del tratamiento primario y secundario, respectivamente. Para el SARS-CoV-2, algunos resultados fueron publicados por (Rimoldi et al, 2020), en los cuales demostraron que el virus presente en aguas residuales y aguas de río recolectadas en Milán no mostraron efecto citopático. En este caso sólo se examinó un número limitado de muestras en un periodo muy corto de enfermedad pandémica.

Aunque la supervivencia de los coronavirus en el ambiente puede diferir según las condiciones, probablemente su supervivencia sea extremadamente baja, especialmente cuando la temperatura del agua residual permanece estable por encima de los 20 °C. Hasta la fecha, la influencia de otros parámetros en aguas residuales como el pH, la luz solar y los agentes desinfectantes sobre el tiempo de supervivencia de los virus no es muy clara. Sin embargo, comparando con el comportamiento de otros coronavirus, este patógeno debería ser rápidamente inactivado. (Wang et al, 2005), observaron que el SARS-CoV puede inactivarse por completo en 30 min en presencia de cloro residual superior a 0.5 mg/L y concentraciones de dióxido de cloro igual a 2.19 mg/L, lo que resulta en una mayor sensibilidad del SARS-CoV al cloro en comparación con otros patógenos como E. Coli y Fago F2. Esto podría sugerir que el uso de cloro en las plantas de tratamiento produciría la inactivación completa. Aunque hasta la fecha no hay evidencia de transmisión de COVID-19 a través de las aguas residuales, ya sea crudas o tratadas, la OMS ha recomendado una etapa de desinfección para evitar cualquier liberación de virus en los cuerpos acuáticos receptores, (OMS, 2020). (Randazzo et al, 2020), publicó un estudio preliminar sobre la presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales después del tratamiento secundario y terciario, demostrando que el 11% de las muestras después de los lodos activados convencionales resultaron positivas a ARN de SARS-CoV-2 y el 100% dieron negativo después de los tratamientos terciarios (desinfección con NaClO, en algunos casos junto con

UV). (Balboa et al, 2020), confirmaron estos resultados estudiando la presencia de SARS-CoV-2 en varios puntos de una PTAR en España. A pesar de que en el agua residual del afluente, una concentración de 7.5-15 copias/mL⁻¹ de ARN del SARS-CoV-2, después de una sedimentación primaria y tratamiento secundario el ARN viral estuvo ausente. Por otra parte, los biorreactores de membrana (MBBR), han mostrado resultados prometedores en la eliminación de virus, aunque el papel de los materiales y las propiedades de la membrana, de los sólidos en suspensión y las interacciones electrostáticas deben investigarse detalladamente.

(Kocamemi, 2020), analizaron lodos primarios y secundarios en diferentes PTAR, encontrando ARN de SARS-CoV-2 en ambos tipos de lodo, los resultados presentados son muy interesantes ya que representan la primera confirmación de presencia de SARS-CoV-2 en sólidos. Algunos puntos por dejar en claro, es si la presencia del virus no es necesariamente una prueba de que pueda ser infeccioso creando un riesgo para las personas, y en segundo lugar las muestras tomadas por (Kocamemi, 2020), se recolectaron inmediatamente después de la extracción de los tanques de sedimentación y, por lo tanto, no se consideró el efecto de los tratamientos en la línea de lodos sobre la presencia y virulencia de SARS-CoV-2. (Peccia et al, 2020), analizaron más de 40 muestras tomadas diariamente durante el brote y pico de COVID-19 en Connecticut (EE.UU.). El punto más interesante es que no sólo probaron la presencia de SARS-CoV-2 en lodos residuales, sino que también destacaron que la concentración de ARN puede usarse como indicador para la predicción de la evolución de la propagación de COVID-19. Cabe señalar que en este estudio las muestras se tomaron inmediatamente después del espesamiento, por lo que los resultados obtenidos no necesariamente implican que el SARS-CoV-2 puede estar presente en los lodos al momento de la propagación o vertido en campos de cultivo. No obstante, hasta la fecha existen varios aspectos que todavía no se esclarecen, tal como el impacto de los tratamientos convencionales y avanzados de las líneas de lodos en las PTAR sobre la presencia de SARS-CoV-2 y la posible presencia de la propagación de sólidos en la agricultura.

(Bibby et al, 2011), encontraron la presencia de HCoV-229E y HCoV-HKU1 en lodos incluso después de la fase de digestión anaerobia (35-37 °C con un TRH de 15 d) y deshidratación mecánica. Este estudio destaca la posibilidad de que los HCoV puedan

sobrevivir a las fases digestivas en el campo mesófilo, pero no determina la capacidad de prevalencia viral en los lodos de las depuradoras, las muestras fueron tomadas inmediatamente después de las fases de tratamiento, por lo que no se tuvieron en cuenta otros factores que podrían acelerar la desaparición del virus en la hipótesis de que se propague por el suelo, como por ejemplo las variaciones de pH, la radiación solar y el calor.

El Consejo Nacional de Investigación de Estados Unidos y el Instituto Nacional de Salud de Italia, reconocen que la presencia de los virus en los lodos no es directamente indicativa de un peligro potencial de la matriz ya que no se ha demostrado una capacidad de transmisión efectiva del patógeno. Además, el SARS-CoV logra resistir en el ambiente externo por un tiempo limitado si se somete al calor y la radiación solar, (Darnell et al, 2004), y actualmente no hay estudios sobre su posible supervivencia en el suelo.

Generalmente, existen 3 pasos o aspectos para lograr una eliminación efectiva de virus presentes en aguas residuales y lodos: a) mayor tiempo de retención, b) valores altos de temperatura y c) valores altos/bajos de pH. Estudios recientes demuestran que el SARS-CoV-2 es particularmente sensible a estos aspectos. (Chin et al, 2020), han demostrado como la resistencia del virus de 22 a 70 °C bajó de 7 d a 1 min, destacando su sensibilidad de este virus hacia valores altos de temperatura. Aunque los estudios sobre el SARS-CoV-2 deben considerarse preliminares, ya que se realizan solo in vitro, proporcionan información interesante que puede permitir la selección de los tratamientos más adecuados para garantizar la inactivación completa de SARS-CoV-2 en lodos residuales. Teniendo en cuenta la sensibilidad del virus a temperaturas mayores a 50 °C, procesos termofílicos biológicos convencionales y avanzados por ejemplo, digestión anaeróbica y biorreactores de membrana aeróbicos/anaeróbicos, respectivamente, y tratamientos térmicos de secado, posiblemente podrían asegurar la inactivación completa del virus. (Balboa et al, 2020), monitorearon una línea de lodo real y detectaron la presencia del ARN del virus en el lodo pre-espesado pero no después de la hidrólisis térmica y el digestor anaerobio.

No obstante, ninguno de los estudios realizados sobre la influencia de los distintos parámetros en la inactivación del SARS-CoV-2 y SARS-CoV se centra específicamente en los lodos pero es muy probable que, además de la temperatura, también la presencia de bacterias,

protozoos, metazoos y, más generalmente, materia orgánica afecte la supervivencia del virus, (Gundy et al, 2009).

III.9 PRINCIPALES MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ARN DEL CORONAVIRUS EN LAS AGUAS RESIDUALES

La detección de virus en muestras fecales se ha realizado principalmente mediante RT-qPCR, este enfoque es el estándar aceptado a nivel mundial para la detección de ARN viral en varios tipos de muestras clínicas; sin embargo, una muestra de heces positiva para el virus solo puede tener el ARN pero no el virus viable infeccioso. Algunos enfoques han demostrado que algunas muestras fecales pueden contener virus viables, lo que genera preocupación por la transmisión de infecciones a través de la exposición a las heces. Por lo tanto, la aparición temprana de síntomas gastrointestinales durante las infecciones por coronavirus podría servir como una advertencia temprana (Chang et al, 2004), (Zhang et al, 2020).

III.10 DISPOSITIVOS DE PAPEL PARA RATREAR FUENTES DE COVID-19

Los dispositivos analíticos de papel han surgido como herramientas poderosas para el diagnóstico rápido de patógenos y la determinación de la transmisión de infecciones (Magro et al, 2017). El dispositivo en papel es una pequeña herramienta analítica con diferentes áreas funcionales impresas en cera que integra todos los procesos: extracción, enriquecimiento, purificación, elución, amplificación y detección visual) necesarios para las pruebas de ácido nucleico en un material de papel económico. Todo el proceso de prueba se puede completar mediante el simple plegado de un dispositivo basado en papel de diferentes maneras en diferentes pasos sin una bomba o fuente de alimentación, lo que supera la limitación de la PCR y evita múltiples procesos. Los dispositivos analíticos de papel permiten ensayos sensibles y multiplexados que compiten con los ensayos de laboratorio y proporcionan diagnósticos rápidos y de alta calidad para patógenos.

Un estudio realizado por (Reboud et al, 2019), demostró que la determinación multiplexada de malaria a partir de sangre total utilizando un dispositivo de papel, pudo analizar con sensibilidad secuencias de ácido nucleico de patógenos en 50 minutos, lo que dio un diagnóstico de malaria de mayor calidad y precisión más rápido que la PCR.

Las autopruebas empleadas para la detección de COVID-19 ofrecen resultados rápidos y confiables detectando infecciones actuales. Las pruebas de anticuerpos indican que nuestro cuerpo desarrolló una respuesta inmune a la infección por un virus. En el caso del SARS-CoV-2, los anticuerpos toman entre 1 a 3 semanas en aparecer posterior a la infección, (West et al, 2021). Es por esto que la detección de anticuerpos no necesariamente nos habla de una infección actual o de la presencia de un virus en el cuerpo. A diferencia de las pruebas de antígeno o la prueba de PCR, las pruebas de anticuerpos se realizan con una muestra de sangre que detecta la presencia de anticuerpos IgM (estos aparecen en la fase aguda) e IgG (aparecen en la segunda fase o de curación) contra diferentes porciones del virus SARS-CoV-2.

III.11 FACTORES QUE AFECTAN LA DETECTABILIDAD

En primer lugar, la cantidad de diseminación del virus per cápita y la tasa de generación de aguas residuales afectará directamente la concentración del virus en las aguas residuales incidiendo en la detectabilidad. La diseminación del virus varía de persona a persona, incluso para la misma persona infectada, la emisión del virus también cambia durante todo el periodo de infección.

Según informes, la carga específica de excreción del SARS-CoV-2 está en el rango de 10^3 - 10^8 copias ARN/gr de heces, (Foladori et al, 2020). La detectabilidad también se ve afectada por la cinética de descomposición del virus y el TRH. La descomposición del virus puede deberse a actividades biológicas y químicas en las aguas residuales, (Hamouda et al, 2021). La pasteurización puede retrasar la cinética de descomposición del virus en las aguas residuales mediante la eliminación de la actividad enzimática extracelular bacteriana y la depredación de protozoos y metazoos, (Ye et al, 2016). Recientemente, (Ahmed et al, 2020), informaron la cinética de desintegración del ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales pasteurizadas y no pasteurizadas.

Otros informes indican que el contenido del virus en el esputo es tan alto como 2.35×10^9 Copias de ARN/mL, (Wolfel et al, 2020). Por lo tanto, la cantidad de diseminación de virus en las aguas residuales de las personas infectadas debería ser mayor de lo que se ha estimado. Un estudio realizado por (Medema et al, 2020), ha demostrado que las muestras de aguas

residuales comenzaron a dar una señal RT-qPCR positiva de genes del virus cuando la prevalencia observada de COVID-19 estaba alrededor o incluso por debajo de un caso en 100,000 personas, según los cálculos, en condiciones óptimas, una persona infectada puede ser detectada en una población de 400,000 por medio de WBE.

III.12 ELIMINACIÓN DE CORONAVIRUS EN EL PROCESO DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Los procesos convencionales del tratamiento de aguas residuales están diseñados principalmente para la eliminación de materia orgánica y sólidos en suspensión, (Droste et al, 2018). Sin embargo, se logra cierto grado de eliminación de patógenos en el proceso pero esto es principalmente efectivo para las bacterias que para los virus. Algunos estudios han informado de la eficiencia de eliminación de virus entéricos durante el tratamiento de aguas residuales, sin embargo, sólo un estudio informó la eliminación del coronavirus durante el tratamiento de aguas residuales, (Wurtzer et al, 2020), detectando ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales tratadas y no tratadas de París, se encontró que las concentraciones en las aguas residuales tratadas eran cien veces más bajas que la carga viral en las aguas residuales no tratadas. Sin embargo, este estudio no informó el tipo de procesos del tratamiento de aguas residuales empleados, ni la viabilidad o no de estas partículas virales. El ARN viral detectado en las aguas residuales tratadas también podrían ser parte de la partícula viral, por lo que esta información no es concluyente para ayudar a comprender la posible eliminación de coronavirus durante el tratamiento de aguas residuales.

La información de la eliminación general del virus y sustitutos de coronavirus podría usarse, con cautela, para brindar información adicional sobre la posible eliminación de estos virus. (Sidhu et al, 2018), observaron que los procesos de tratamiento de lodos activados en condiciones subtropicales alcanzaron por encima de $3.0 \log_{10}$ eliminación de virus entéricos. Los tratamientos de lodos activados son un proceso común de aguas residuales que se utiliza ampliamente en todo el mundo (Sidhu et al, 2018). Este proceso incluye sedimentación primaria, degradación biológica y clarificación secundaria (CONAGUA, 2005). Los coronavirus pueden aparecer en la etapa de sedimentación primaria. Se ha informado que la inactivación microbiana aumenta con el aumento del tiempo de retención hidráulica (TRH), hasta que se alcanza una saturación (García J.V., 2003). Por lo tanto, un THR más prolongado

puede ser fundamental para inactivar los coronavirus en las aguas residuales. La digestión anaeróbica de lodos, es otro proceso que ha demostrado tener como resultado la reducción de microorganismos patógenos.

Se ha informado una eliminación viral entre 2.0 y 3.0 log₁₀ para diferentes tipos de virus durante el tratamiento con biorreactor con membrana (MBR), (Prado et al, 2019). El mecanismo principal en los procesos de MBR responsable de la eliminación de virus y otros patógenos es la retención o la exclusión por tamaño. Las tecnologías de membranas más utilizadas en el tratamiento de aguas residuales son la microfiltración (0.1-0.2 μm) y la ultrafiltración (0.005≈10 μm).

Los procesos terciarios de tratamiento de aguas residuales, como la cloración y el tratamiento con rayos ultravioleta, también pueden resultar en una mayor eliminación de los coronavirus restantes en las aguas residuales. (Wang et al, 2005), informaron que el SARS-CoV se puede inactivar completamente con 20 mg/L de cloro en 1 min. Observaron que el dióxido de cloro era menos efectivo para la eliminación del SARS-CoV en comparación con el cloro libre. Se ha informado que el cloro inactiva los virus a través de la escisión de la estructura de la proteína de la cápside de los virus, por lo que inhibe la inyección del genoma viral en las células huésped (Wigginton et al, 2012).

III.13 ESTABILIDAD DEL SARS-CoV-2 EN CONDICIONES AMBIENTALES

El virus del SARS-CoV-2 se puede detectar en diferentes superficies en un sitio contaminado. (Chin et al, 2020), midió la estabilidad del SARS-CoV-2 a diferentes temperaturas, obteniendo una concentración de 6.8 unidades logarítmicas de dosis infecciosa de cultivo celular al 50%, se incubó durante 14 días y luego probó su infectividad. El virus es altamente estable a 4 °C, pero sensible al calor. A esta temperatura solo hubo una reducción de alrededor de 0.7 unidades logarítmicas del título infeccioso al día 14. Con el aumento de la temperatura de incubación a 70 °C, el tiempo de inactivación del virus se redujo a 5 minutos. Experimentaron la estabilidad del virus también en otras superficies planas, extrajeron una gota de 5 μL de cultivo de virus (7-8 unidades log/mL) y se dejó a temperatura ambiente (22 °C) con una humedad relativa de alrededor del 65%. Los objetos inoculados recuperados en los puntos de tiempo deseados se empaparon inmediatamente con 200 μL de medio de

transporte de virus durante 30 minutos para eluir el virus. Por lo tanto, esta recuperación de virus no necesariamente refleja el potencial de infectividad por contacto casual. No se pudo recuperar ningún virus infeccioso de los papeles de impresión y los pañuelos de papel después de una incubación de 3 horas, mientras que no se pudo detectar ningún virus infeccioso de la madera y la tela tratadas al día 2. Por otra parte el SARS-CoV-2 fue más estable en superficies lisas tratadas al día 4 (vidrio y billetes) y el día 7 (acero inoxidable y plástico). No obstante, un nivel detectable de virus infeccioso aún podría estar presente en la capa exterior de una máscara quirúrgica. El día 7, pudieron encontrar una descomposición bifásica del SARS-CoV-2 infeccioso en muestras recuperadas de éstas superficies lisas. 39 muestras no infecciosas representativas dieron positivo por RT-PCR, lo que demuestra que los eluyentes aún pueden recuperar virus no infecciosos. (Chin et al, 2020), también evaluaron los efectos virucidas en los desinfectantes agregando 15 μ L de cultivo SARS-CoV-2 a 135 μ L de varios desinfectantes. Con la excepción de una incubación de 5 minutos con jabón de manos, no se pudo detectar ningún virus infeccioso a temperatura ambiente (22 °C). Como se ha mencionado anteriormente, el SARS-CoV-2 es extremadamente estable en una amplia gama de valores de pH (3-10), a temperatura ambiente. En general, el SARS-CoV-2 puede ser muy estable en un entorno favorable, pero también es susceptible a los métodos de desinfección estándar.

IV. MARCO TEÓRICO

Hasta la fecha, ningún estudio ha considerado los riesgos que representan para los trabajadores de las PTAR, por lo que existe una falta de información sobre las posibles infecciones por esta exposición. Se ha informado de la aerosolización de sustitutos del virus del ébola (virus con envoltura de ARN) en los sistemas de aguas residuales (Lin y Marr, 2017), que muestra el potencial de detectar coronavirus en aerosoles de aguas residuales. Varios factores pueden influir en la infección de los trabajadores de las PTAR por inhalación de aerosoles contaminados con coronavirus:

- Tasa de emisión: esto se refiere a la cantidad de partículas virales infecciosas liberadas por unidad de tiempo. Esta es una función de la disponibilidad del virus y su tasa de aerosolización.

- Factores meteorológicos: la velocidad y la dirección del viento, la turbulencia y la deposición son factores que influirán en gran medida en la transmisión de patógenos, incluidos los virus, a través de aerosoles, (Van Leuken 2016). Una mayor velocidad del viento también podría resultar en la exposición de las poblaciones que viven cerca de las PTAR al coronavirus.
- Inactivación viral: esto se expresa en función del tiempo y factores meteorológicos como la temperatura y la humedad. A 25 °C y una humedad relativa (HR) del 79% se ha encontrado que más del 60% de los coronavirus en aerosoles permanecen infecciosos hasta por 60 minutos, sin embargo, a una temperatura más cálida, de 38 °C y 24% de HR, sólo el 4.7% sigue siendo infeccioso, (Pyankov et al, 2018).
- Cantidad de partículas virales infecciosas inhaladas: la frecuencia respiratoria, el volumen pulmonar y el tamaño de las partículas son factores importantes. Los hombres tienen cavidades nasales más grandes y pisos nasales más largos, más estrechos y más altos que las mujeres del mismo tamaño corporal, (García-Martínez, 2016). Esto puede resultar en la inhalación de un mayor número de partículas virales infecciosas por parte de los trabajadores masculinos que femeninos en las plantas de tratamiento de aguas residuales, lo que aumenta los riesgos de infección por coronavirus.

IV.1 SARS-CoV-2 PRESENTE EN LODOS RESIDUALES

Las aguas residuales municipales constituyen una matriz compleja que incluye materiales sólidos en suspensión, materia orgánica coloidal, y disuelta biodegradable, nutrientes, patógenos, entre otros. En las plantas de tratamiento de aguas residuales la mayoría de los sólidos se separan del agua a la llamada línea de lodos. Muchas PTAR cuentan con una primera etapa de separación de sólidos (sedimentador primario) y un sedimentador secundario que separa el lodo activado del agua clarificada. Finalmente, los dos tipos de lodos (primario y secundario) se concentran en el espesador desde donde se envían a la unidad de tratamiento de lodos.

Los contaminantes de naturaleza hidrófoba se retienen en su mayoría en lodos primarios o secundarios, (Prado et al, 2014). Se sabe que los virus envueltos, debido a la presencia de una bicapa lipídica que rodea la cápside proteica, tienen una afinidad diferente a los virus no envueltos, con mayor tendencia a absorberse a partículas sólidas y/o coloidales. Por lo tanto,

lo más probable es que el SARS-CoV-2 y sus partículas si sean hidrofóbicos y, en consecuencia, estarían asociados a los sólidos y material coloidal. Lo que se sabe hasta ahora sobre la transmisión de SARS-CoV-2 puede no llegar a ser tan alarmante, ya que la operación en las PTAR esta diseñada para eliminar en su mayoría de las veces todos aquellos organismos patógenos por medio de tratamientos avanzados, no obstante, sólo una pequeña fracción de plantas de tratamiento cuentan con tratamientos terciarios habilitados. Siendo los lodos y los efluentes de agua los principales puntos rojos de una PTAR, es importante determinar si se puede detectar SARS-CoV-2 en estas corrientes. Sin embargo, queda por determinar si la ausencia o la detección de material genético de SARS-CoV-2 puede llevar a alguna conclusión sobre la infectividad del agua o los lodos.

El tratamiento de los lodos en las PTAR es muy heterogéneo, ya que las grandes plantas suelen contar con un tratamiento de digestión anaerobia, normalmente a temperaturas moderadas (35-40 °C) y largos tiempos de retención (10-20 días), lo que ayudaría a inactivar la posible carga viral. Además, la hidrólisis térmica o un tratamiento térmico similar de los lodos es cada vez más común en las grandes plantas de tratamiento y proporciona una inactivación eficaz de los aportes virales. Por otra parte, en las plantas más pequeñas, los lodos pueden recibir un tratamiento de secado por calor antes de ser enviados o dispuestos por ejemplo a un relleno sanitario, ó cualquier sitio de disposición final (Balboa et al, 2020).

IV.2 EPIDEMIOLOGÍA BASADA EN AGUAS RESIDUALES DEL SARS-CoV-2

El principio de la Epidemiología de Aguas Residuales para SARS-CoV-2 se muestra en la figura 3. Cuatro pasos principales están involucrados: muestreo, concentración de virus, el cual es un paso clave para la detección y cuantificación del SARS-CoV-2 en las aguas residuales debido a que su concentración disminuye por dilución en las corrientes de aguas residuales, extracción viral la cual tiene como finalidad obtener el ARN de la matriz sin dañar los ácidos nucleicos y por último la cuantificación. Los enfoques aplicados para este propósito son múltiples e incluyen el utilizado para *poliovirus*, concentración basada en el método de separación de dos fases, precipitación, centrifugación, ultrafiltración, filtración convencional y filtración por membranas cargadas negativamente, extracción de ARN/ADN, RT-qPCR e informes de datos/resultados. De acuerdo con los diferentes propósitos de investigación y las situaciones epidémicas locales, se pueden adoptar diferentes estrategias

de muestreo. En áreas donde el COVID-19 todavía está activo, no sólo se puede rastrear el cambio de la proporción de infección en una comunidad a lo largo del tiempo, sino también comparar la carga epidémica de diferentes comunidades.

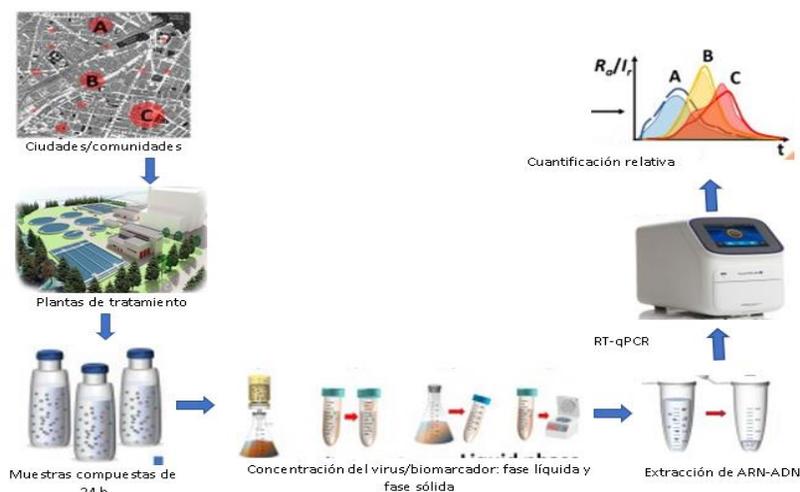


Figura 3. Presentación del marco técnico del WBE para el SARS-CoV-2 basado en la cuantificación relativa a través de PCR, (Jinyong et al, 2021).

Para los primeros, se adopta la estrategia de muestreo repetido en el mismo punto de muestreo en diferentes fechas (temporales), que se puede utilizar para rastrear la tendencia cambiante de la epidemia comunitaria. Mientras que para estos últimos, las muestras de recolectarán en diferentes comunidades (espaciales) en las mismas fechas, lo que puede realizar la comparación horizontal de la carga epidémica entre diferentes comunidades y proporcional orientación regional para mantener el aislamiento o reiniciar la economía. Si se dispone de datos precisos sobre la infección de la comunidad, ambas estrategias pueden eventualmente establecer una relación cuantitativa entre la abundancia de ARN del virus de las aguas residuales y la proporción de infección de la comunidad.

En una zona de baja prevalencia donde la epidemia ha estado bajo control, un diseño razonable de los puntos de muestreo puede realizar un monitoreo en tiempo real de toda el área y prevenir el resurgimiento de la epidemia causada por personas infectadas asintomáticas importadas o alimentos contaminados con virus. Una vez que se detecta una señal positiva en un determinado punto de muestreo, se pueden agregar puntos de muestreo secundarios en el área correspondiente o realizar un cribado regional de personal completo para rastrear a las personas infectadas. Independientemente de la estrategia de muestreo, se recomienda el uso de muestras compuestas ponderadas por flujo las 24 horas para las pruebas,

(Ahmed et al, 2020). Para los pasos de concentración y extracción de ARN/ADN del virus, se recomienda recuperar el virus de la fase sólida y líquida y extraer tanto el ARN como el ADN de muestras concentradas, debido a la tendencia a la adsorción del virus envuelto en partículas sólidas y la propiedad de ADN del gen de referencia, (Ahmed et al, 2020).

Los factores críticos que afectan la detección y la estimación viral incluyen los métodos de concentración, el periodo de retraso, la cantidad de diseminación del virus per cápita, la tasa de generación de aguas residuales, la cinética de descomposición relacionada con la temperatura del virus/biomarcador en las aguas residuales y el tiempo de residencia hidráulico (TRH).

IV.2.1 TRASMISIÓN DEL SARS-CoV-2 POR AEROSOL Y OBJETOS CONTAMINADOS

La vía de transmisión aérea es la que las primeras investigaciones postulan como una vía adicional que puede explicar la presentación de varios brotes atribuidos a la inhalación de pequeñas microgotas o bio-aerosoles portadores del virus. Esta vía de transmisión puede estar asociada al aumento de brotes de COVID-19. Asumir la existencia y la contribución de esta vía en la transmisión de COVID-19 puede tener importantes implicaciones para controlar la pandemia si se confirman los resultados de estudios recientes y para aclarar las vías de transmisión de otras enfermedades respiratorias provocadas por virus.

El análisis de los primeros brotes de COVID-19 en espacios cerrados (ambientes interiores) con muchas personas y una deficiente ventilación (restaurantes, lugares de reunión de personas, cruceros, autobuses, centros de trabajo, entre otros) respalda la existencia de la transmisión aérea de COVID-19 por bioaerosoles. A la luz de las evidencias científicas sobre la posibilidad de que el virus SARS-CoV-2 se pueda transmitir mediante aerosoles en ambientes interiores, con alta ocupación y mal ventilados, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020), propone realizar de forma urgente nuevas investigaciones que permitan aclarar el papel que juegan las diferentes vías de transmisión y de forma específica el papel de la transmisión mediante aerosoles.

La evidencia actual sugiere que el SARS CoV-2 se transmite principalmente mediante la propagación por el contacto directo persona a persona. Entender los mecanismos de

propagación del SARS-CoV-2 es esencial para adoptar las medidas de salud pública para prevenir y controlar la pandemia. Según la OMS las infecciones respiratorias por SARS-CoV-2 pueden transmitirse por las vías de transmisión mencionadas a continuación.

IV.2.2 TRANSMISIÓN POR GOTAS RESPIRATORIAS Y POR CONTACTO

La transmisión de SARS-CoV-2 puede ocurrir por contacto directo, indirecto o contacto estrecho con personas infectadas a través de secreciones infectadas como la saliva y secreciones o gotas respiratorias que son emitidas cuando la persona infectada tose, estornuda, habla o canta. Las gotas respiratorias son de dos tipos: Gotas respiratorias grandes de tamaño entre 5 y 10 μm y Gotas pequeñas, microgotas, de tamaño inferior o igual a 5 μm , también conocidas como núcleo de gota o aerosoles. Las gotas respiratorias grandes caen por gravedad al suelo en una distancia de 1-2 metros, (Vargas et al, 2020).

La transmisión directa por gotas respiratorias puede ocurrir cuando una persona está en contacto estrecho (menos de 1 metro) con una persona infectada con síntomas respiratorios (toser o estornudar) o que esté cantando o hablando. En estas circunstancias las gotas respiratorias que contienen el virus pueden alcanzar la boca, nariz o los ojos de una persona susceptible y provocar su infección. La transmisión por contacto indirecto se produce cuando una persona susceptible entra en contacto con un objeto o superficie contaminada (fómite).

IV.2.3 TRANSMISIÓN AÉREA POR AEROSOLES

Los aerosoles son gotas pequeñas o microgotas menores a 5 μm , que se producen por partículas que permanecen suspendidas en el aire durante un tiempo determinado a una distancia mayor de 2 metros y especialmente en lugares cerrados con ventilación escasa, (Vargas et al, 2020). Estos aerosoles pueden generarse a partir de la evaporación de gotas mayores y también cuando se habla o se respira. Aún se desconoce la cantidad y la dosis de aerosoles generados por evaporación de gotas de mayor tamaño para que el virus se pueda considerar infeccioso. La detección viral del SARS-CoV-2 en las partículas de aerosoles no significa necesariamente que exista un número suficiente de virus viables con capacidad infecciosa. Se han realizado algunos estudios sobre los aerosoles, sin embargo, para el SARS-CoV-2, la OMS establece que la transmisión por esta vía no ha sido demostrada y se necesitan

nuevos datos basados en investigaciones que demuestren el papel y el grado de la transmisión del SARS-CoV-2 asociado a esta vía de transmisión, (Bibby et al, 2020).

IV.3 PERSISTENCIA DEL SARS-CoV-2 EN MATERIALES, SUPERFICIES Y AIRE

Se han observado diferentes niveles de contaminación ambiental (en superficies) en habitaciones ocupadas por pacientes con COVID. Sin embargo, no se observó contaminación del aire en las muestras de estas habitaciones, (Ong et al, 2020). Si se detectó alguna partícula viral en las salidas (rejillas) de los conductos del aire que pueden ser posteriormente depositadas en superficies, lo que indica que el virus puede recorrer distancias superiores a los 2 metros. Sin embargo, este hallazgo no implica que exista un riesgo elevado de transmisión por vía aérea. La permanencia de SARS-CoV-2 viable en superficies de cobre, cartón, acero inoxidable y plástico ha sido de 4, 24, 48 y 72 horas, respectivamente, cuando se mantiene a 21-23 ° C y con 40% de humedad relativa, (Doremalen & Morris, 2020). En otro estudio, a 22 ° C y 60% de humedad, se deja de detectar el virus tras 3 horas sobre superficie de papel (de imprimir o pañuelo de papel), de 1 a 2 días cuando lo aplican sobre madera, ropa o vidrio y más de 4 días cuando se aplica sobre acero inoxidable, plástico, billetes de dinero y mascarillas quirúrgicas (Chin et al, 2020). La evidencia actual sugiere que el SARS-CoV-2 puede permanecer viable durante horas o días en superficies fabricadas con una amplia variedad de materiales. En la tabla 4 se resume la información disponible sobre la persistencia del virus en determinados materiales y diversos estudios.

Tabla 4. Persistencia de virus en diferentes medios ambientales. Reportada por (Vargas et al, 2020).

MATERIAL	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO DE PERSISTENCIA
Plástico	22-25	2-7 días
Aluminio	21	2-8 horas
Guantes quirúrgicos	21	<8 horas
Papel	NA	3 horas, 4-5 días
Acero	20	48 horas-7 días
Madera	NA	2-4 días
Metal	NA	5 días
Cristal	NA	4 días
Tela	NA	2 días

Billetes	NA	4 días
Cubrebocas	NA	7 días
Cobre	NA	4 horas
Cartón	NA	24 horas

Además de la transmisión por gotas respiratorias y por fómites existe una creciente evidencia de la transmisión aérea por aerosoles. Según numerosos autores este tipo de transmisión se realiza por microgotas de tamaño igual o inferior a 5 μm que contienen el agente infeccioso. Estas microgotas son partículas suspendidas y transportadas por el aire (bioaerosoles). En la tabla 5 se resumen las principales características de las gotas respiratorias, su tamaño, tipo de transmisión, distancia de contagio y probabilidad de riesgo.

Tabla 5. Tipos de gotas respiratorias y transmisión por gotas grandes respiratorias y por microgotas o bioaerosoles del SARS-CoV-2 (Vargas et al, 2020).

Nombre	Gotas respiratorias grandes	Microgotas o bioaerosoles
Tamaño	>5-10 μm	<5 μm
Tipo de transmisión	Por contacto directo con gotas respiratorias grandes (inhalación, mucosas, ojos, nariz, boca y objetos contaminados.	Vía aérea. Por inhalación de bioaerosoles que son transportados por el aire y contienen virus.
Distancia de transmisión	De 0 a 2 metros	De 0 a varios metros
Probabilidad de riesgo	Elevada	Baja con poca evidencia creciente especialmente en lugares cerrados y con poca o mala ventilación.

IV.4 CUANTIFICACIÓN DEL SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES PARA EL MONITOREO Y DISPERSIÓN EN LAS COMUNIDADES

Como se ha mencionado anteriormente, el principal mecanismo de transmisión del virus que causa la enfermedad de COVID-19, es a través de gotitas y aerosoles. (Hyatt Green et al, 2020), informaron que cierta cantidad de partículas virales inactivas son liberadas en las heces de personas infectadas.

Los métodos para identificar y cuantificar el ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales han variado en muchos informes. (Medema et al, 2020), utilizaron el método de centrifugación de velocidad moderada con filtros centrífugos para la concentración y purificación de la muestra. Este método fue replicado con éxito mediante la filtración a través de membranas electronegativas. Sin embargo, el costo y la disponibilidad de los filtros centrífugos pueden ser limitantes para algunos laboratorios, especialmente considerando la probabilidad de interrupciones en la cadena de suministro durante una pandemia. No obstante, el método más comercial y accesible y que requiere poco equipo especializado es la precipitación con polietilén glicol (PEG) y extracción con Trizol para obtener ARN purificado, (Wu et al, 2020). Entre los procedimientos más simples que se han utilizado e informado, son la ultracentrifugación de pequeños volúmenes (1 mL) de aguas residuales durante 1 hora, seguida de la extracción de ácidos nucleicos del sedimento. También la floculación impulsada por aluminio seguida de la extracción de ácido nucleico también se ha utilizado para detectar con éxito el virus en aguas residuales, (Randazzo et al, 2020). Otro método es la filtración de flujo tangencial seguida de precipitación con PEG para concentrar y purificar virus de las aguas residuales, sin embargo, tiene la desventaja de el tiempo requerido para filtrar una sola muestra.

Hasta la fecha, permanece la incertidumbre de cómo las concentraciones de SARS-CoV-2 en las aguas residuales pueden tener una influencia significativa en las decisiones de salud pública. Una perspectiva atractiva es utilizar las concentraciones virales en las aguas residuales para estimar el número de individuos infectados “aguas arriba” en el área de captación representada. La combinación de los resultados de las aguas residuales con las tasas de excreción para llegar a la cantidad estimada de personas infectadas en el área representada proporcionó una cantidad de casos a la esperada en el área de Boston, (Wu, et al, 2020). Los factores que siguen siendo problemáticos para este enfoque y otros son las bajas concentraciones de virus obtenidas, lo que aumenta la incertidumbre en el proceso de cuantificación, así como los problemas relacionados con el destino viral y el transporte a través de la infraestructura de aguas residuales.

Las concentraciones de diferentes sustancias en las aguas residuales han proporcionado información cualitativa o cuantitativa importante sobre la actividad de los habitantes dentro

de una cuenca de aguas residuales determinada, principalmente sobre el uso de drogas. Recientemente, se han propuesto aplicaciones potenciales emergentes en el campo de las enfermedades infecciosas, (Choi et al, 2018). El SARS-CoV-2 se ha aislado de las heces y la orina dentro de los tres días posteriores a la infección, (Holshue et al, 2020). (Zhang et al, 2020), evaluaron la dinámica del virus en la provincia de Zhejiang en China, observando que la duración media del virus en heces fue de 22 días, que fue significativamente más larga que en las vías respiratorias (18 días), y las muestras de suero (16 días).

Es esencial tener en cuenta que el virus tiene cierto tiempo de supervivencia fuera del organismo humano y su medición puede proporcionar herramientas sólidas para el monitoreo y notificar alertas a corto plazo de posibles o futuras transmisiones en las comunidades. Algunas consideraciones que se tienen que tomar en cuenta son el muestreo, la conservación y el procesamiento de las muestras, ya que representan medidas críticas al momento de realizar la cuantificación del virus cuando se cree que se encuentra en bajas concentraciones en las aguas residuales. Como se ha mencionado, la prueba de RT-PCR basada en ácido nucleico y la PCR digital de gotitas, pueden arrojar resultados confiables sobre la cuantificación del virus. Estos enfoques tienen una alta especificidad y sensibilidad, pero consumen mucho tiempo y requieren personal calificado y un largo periodo de procesamiento y análisis de datos que no son ideales cuando se pretende el monitoreo en tiempo real. También, pueden emplearse los dispositivos analíticos de papel, los cuales han surgido como métodos rápidos y confiables para la detección de secuencias de ácidos nucleicos de virus y otros patógenos. Todo el procedimiento se puede realizar a través del simple plegado de un dispositivo basado en papel de varias maneras sin la necesidad de una fuente de alimentación u otras herramientas adicionales, superando así muchas de las limitaciones que consumen tiempo en las pruebas PCR. Estos dispositivos se emplearon con éxito en el diagnóstico de la malaria a partir de sangre total, proporcionando un resultado de mayor confiabilidad y precisión en comparación con la PCR, (Reboud et al, 2019).

Sin embargo, se considera que la detección temprana de coronavirus en aguas residuales representa un enfoque para utilizarse como una alerta en las comunidades sobre posibles brotes de COVID-19.

IV.5 EFECTOS INDIRECTOS DEL SARS-CoV-2 EN EL MEDIO AMBIENTE

El SARS-CoV-2 ha tenido cierto impacto directo en el medio ambiente. Zambrano et al, 2020 informaron que las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) disminuyeron en proporciones nunca antes vistas desde la segunda guerra mundial, este resultado se debió principalmente al distanciamiento social que los gobiernos de todo el mundo implementaron tras la aparición de la pandemia. En la provincia de Hubei, China, se implementaron fuertes medidas de distanciamiento social a fines de 2019 cuando recién se detectó por primera vez el virus. El resultado fue que las centrales eléctricas y las instalaciones industriales detuvieron su producción. También el uso de vehículos públicos y privados disminuyó considerablemente. Estas medidas significaron en una reducción considerable de las concentraciones de dióxido de nitrógeno (NO_2) y material particulado con diámetro inferior a $2.5 \mu\text{m}$ (PM 2.5) en las principales ciudades Chinas, (Zambrano et al, 2020).

Gracias a eso la contaminación del aire se redujo drásticamente desde que los gobiernos ordenaron a los ciudadanos permanecer en casa para contener la propagación del nuevo coronavirus. Las principales industrias, así como otras actividades regulares, se detuvieron. La figura 4 y 5 muestra una reducción significativa de concentraciones de NO_2 en países como Francia, Alemania, Italia y España.

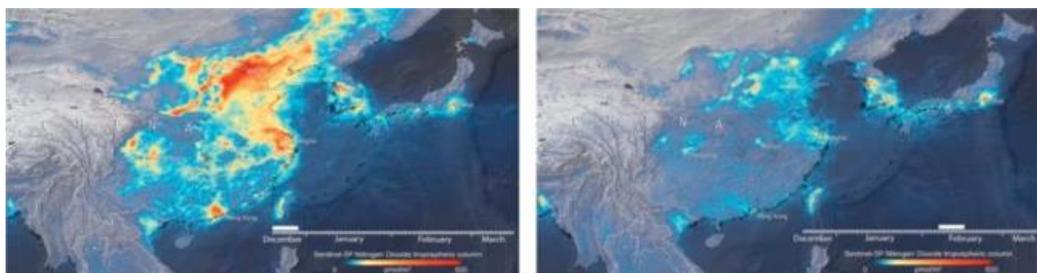


Figura 4. Evolución de las concentraciones de NO_2 en Ciudades de China, tomada de (ESA, 2020^a).

También la disminución en el uso del transporte público y privado, así como en las actividades comerciales, ha provocado una reducción del ruido. A pesar de los efectos indirectos positivos sobre el medio ambiente, el nuevo coronavirus también ha generado efectos indirectos negativos como la suspensión de centros de reciclaje por el temor de un posible riesgo de propagación en los materiales reciclados. Algunas industrias han

aprovechado la oportunidad para incentivar las prohibiciones de bolsas desechables así como de los plásticos de un solo uso.

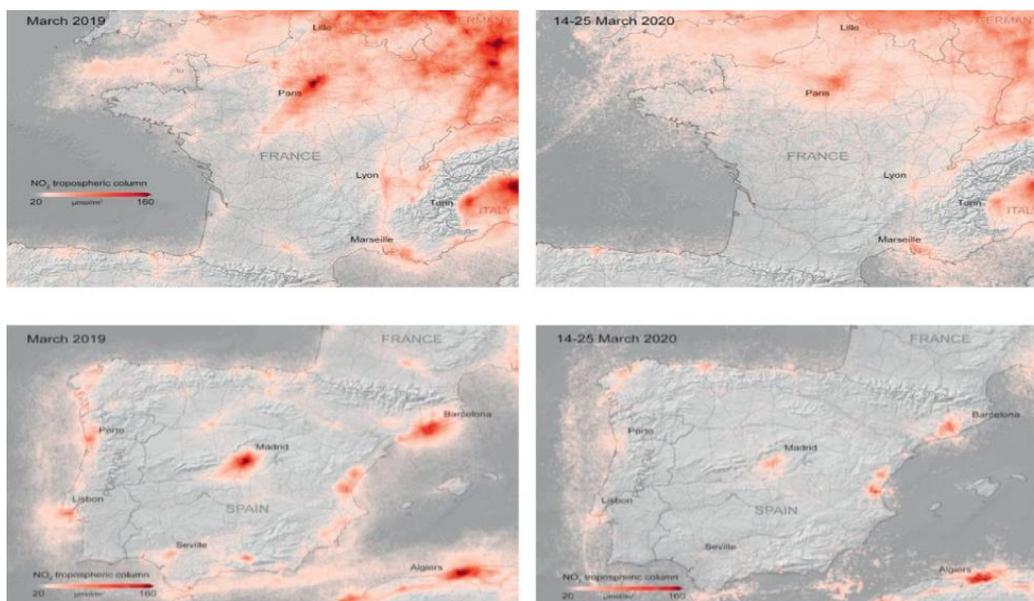


Figura 5. Evolución de las concentraciones de NO₂ en algunas regiones de Europa, ESA, 2020b.

IV.6 VIGILANCIA DE SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES Y COMUNIDADES RURALES

A inicios de la pandemia causada por la enfermedad de COVID-19 en el año 2020 y hasta la actualidad, ha sido un tema claro para todas las instituciones de salud públicas y privadas de todo el mundo que esta nueva enfermedad se convirtió rápidamente en un patógeno potencial pandémico y mortal debido a su alto grado de infectividad. Más de dos años después de los primeros casos reportados, muchas personas de todo el mundo todavía están lidiando con la enfermedad y las variantes recién descubiertas y más peligrosas que se están propagando y causando enfermedades generalizadas y muerte, (Duong, 2021).

La vigilancia de las aguas residuales realizada mediante RT-qPCR se está llevando a cabo en todo el mundo, principalmente en áreas metropolitanas grandes de países primermundistas, (Bivins et al, 2020). En general, las comunidades rurales de muchos países no han tenido acceso a los mismos servicios que las comunidades urbanas y periurbanas, y los países con un mayor desarrollo que cuentan con los recursos financieros y materiales, instancias académicas y de investigación son capaces de realizar los análisis y tomar medidas de forma inmediata para enfrentar la enfermedad. Por otro lado, las comunidades rurales más pequeñas

y los países de bajos ingresos sin instalaciones de saneamiento de aguas pueden no tener el personal, el equipo o la experiencia para llevar a cabo el muestreo para la detección viral del SARS-CoV-2 en aguas residuales, (Haider et al, 2016). Las instalaciones mejor equipadas con muestreadores y herramientas automatizadas, pueden llevar a cabo la implementación de un programa de monitoreo de aguas residuales mucho más fácil para fines de rutina. Además, existe una tendencia creciente de que se pueden encontrar concentraciones más altas de partículas virales de SARS-CoV-2 en los sólidos de las aguas residuales, (Chik et al, 2021), y como tal, varios esfuerzos de vigilancia ahora se centran en medir la señal de fracciones sólidas de muestras.

En las comunidades pequeñas y rurales, la recolección de sólidos puede ser problemática, ya que las unidades de separación de sólidos dedicadas presentes en instalaciones más grandes ubicadas en comunidades urbanas y periurbanas, pueden no existir en instalaciones más pequeñas, lo que requiere diferentes enfoques de muestreo. Desafortunadamente, los recursos limitados disponibles en las comunidades pequeñas y rurales o en los países de bajos ingresos a menudo comprometen los esfuerzos la vigilancia de aguas residuales. Las comunidades pueden, a su vez, estar a merced de fondos o mandatos debido a la falta de recursos físicos, materiales y/o financieros. La mayoría de los esfuerzos de la vigilancia de aguas residuales intentan predecir las tendencias de las métricas epidemiológicas de COVID-19 en la población general cuantificando los aumentos y disminuciones en las tasas de casos clínicos de covid-19. Estos estudios ambientales a menudo se centrarán en la recolección de muestras dentro del lodo o primario debido a la concentración relativamente alta de sólidos en estas corrientes de aguas residuales, (Hill et al, 2020). Sin embargo, varios municipios que operan pequeños sistemas de tratamiento, como los estanques de estabiilización de residuos, también conocidos como lagunas de tratamiento, no tienen acceso directo a los lodos primarios o de influentes en bruto. Sin embargo, las comunidades más pequeñas pueden tener acceso directo a los estanques de estabilización de desechos y a las estaciones de bombeo/elevación.

IV.7 MONITOREO DE SARS-CoV-2 EN LÍNEAS DE ALCANTARILLADO

Si el objetivo de la vigilancia del SARS-CoV-2 basada en aguas residuales es conectar las tendencias en la detección del SARS-CoV-2 en aguas residuales con los datos de pruebas comunitarias, existen numerosas consideraciones que complican una comparación directa.

No todos los individuos infectados exhiben diseminación fecal detectable del virus, y los que lo hacen, se desprenden a diferentes niveles y durante duraciones variables de tiempo. Los datos de salud de la comunidad generalmente no se informan a lo largo de los mismos límites que las alcantarillas que alimentan las plantas de tratamiento de aguas residuales, y las poblaciones transitorias pueden contribuir a múltiples mediciones.

La fiabilidad de los diagnósticos basados en PCR también depende de la selección de cebadores, ya que las mutaciones en los sitios de cebado pueden conducir a falsos negativos, (Khan et al, 2020). Los diferentes lugares de muestreo también tienen variables físicas y químicas que podrían afectar el transporte y la estabilidad del ARN viral, incluidos los insumos industriales y de agua de lluvia y las características de la población atendida por el alcantarillado. Las variaciones en la recolección de muestras, el tiempo de retención y las metodologías de procesamiento pueden conducir a tasas de recuperación y límites de detección drásticamente diferentes, (Pecson et al, 2021). Muchos estudios eliminan sólidos y realizan mediciones utilizando solo efluentes de aguas residuales, (Jafferli et al, 2021), mientras que varios estudios han encontrado niveles significativos de SARS-CoV-2 asociado a sólidos. Finalmente se han empleado una variedad de métodos para ajustar las mediciones de aguas residuales tanto para las pérdidas de procesamiento como para la entrada fecal, incluido el uso de marcadores fecales como crassphage o pepper mild mottle virus (PMMoV), volumen de flujo y ARN total, (Wu et al, 2020).

V. JUSTIFICACIÓN

La vigilancia de la prevalencia de enfermedades durante una pandemia como la causada por el virus del SARS-CoV-2 es fundamental considerando la tasa de propagación y la alta población en diferentes partes del mundo.

La prioridad de detección y el riesgo de contagio gira en torno a la salud de las personas, es por eso que, se debe tener un programa de monitoreo tal y como se presenta en este trabajo de investigación para ayudar a detectar posibles nuevos casos de SARS-CoV-2 o de otras enfermedades causadas por virus, siempre y cuando se tenga un método analítico para identificar el virus en las corrientes de aguas residuales, superficiales y subterráneas. Esto es

fundamental para el control de la pandemia, especialmente cuando por ciertas circunstancias no se disponga de pruebas exhaustivas en humanos.

Aunque las aguas residuales no están sujetas a las limitaciones de las pruebas de diagnóstico clínico a nivel de caso individual, es un indicador agregado potencialmente útil de las infecciones por SARS-CoV-2 de una comunidad a través de un gradiente de gravedad que incluye enfermedad asintomática/presintomática leve a grave, (Picó, 2019). Desde su primer uso notificado en marzo de 2020 al comienzo de la pandemia, el monitoreo del ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales ha indicado una posible alerta temprana del aumento de la carga de casos confirmados, lo cual ha facilitado las investigaciones de las tendencias espaciales y temporales, así como respuestas informadas de gestión de la salud pública, como la aplicación de pruebas clínicas más intensivas.

VI. HIPÓTESIS

Con el monitoreo de las aguas residuales de la población de Zacatepec Morelos, se espera detectar la presencia del virus SARS-CoV-2 para prevenir futuros brotes e infecciones hacia la población. Utilizando el kit de prueba de anticuerpos que se emplea para la detección cualitativa de anticuerpos IgM/IgG del coronavirus en suero humano, plasma y sangre, que se basa en el principio de detección por método indirecto de inmunocromatografía de antígeno recombinante, se pretende detectar la presencia en muestras de aguas residuales a fin de recabar información y obtener información para emitir una alerta temprana.

El análisis de aguas residuales puede ser de gran utilidad en el seguimiento de la pandemia de COVID-19 y de otras enfermedades virales que pueden dispersarse a través de este medio.

VII. OBJETIVOS

VII.1 GENERAL

Identificar por medio del monitoreo basado en la Epidemiología de Aguas Residuales la presencia del virus SARS-CoV-2 en muestras de agua cruda y tratada así como en lodos de recirculación y sus posibles riesgos de infectividad.

VII.2 ESPECÍFICOS

- Monitorear la presencia de anticuerpos virales del SARS-CoV-2 a lo largo de las líneas de tratamiento de aguas residuales en la PTAR de Zacatepec de Hidalgo, Morelos.
- Aplicar las técnicas de extracción cualitativas adecuadas para la identificación de anticuerpos virales de SARS-CoV-2.

VIII. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se consideró una detección cualitativa basada en el principio del método indirecto de inmunocromatografía de antígeno del Coronavirus (COVID-19). La toma de muestras se realizó en un periodo comprendido de marzo de 2021 a abril de 2022, recolectando muestras de agua cruda, tratada y lodos de recirculación. En cada análisis se tomaron lecturas para monitoreo de la calidad del agua en las etapas del tratamiento como se muestra en la tabla 6. Cada frasco fue debidamente etiquetado y analizado en el momento.

Tabla 6. Monitoreo de parámetros de campo en la PTAR de Zacatepec, Mor.

MÉTODO DE REFERENCIA		NMX-AA-007-SCFI-2013	NMX-AA-008-SCFI-2016	NMX-AA-093-SCFI-2018	N/A
Unidad		°C	Unidades de pH	µs/cm	LPS
FECHA	HORA	INFLUENTE			
15-mar-21	11:30 a. m.	26.3	5.4	1113	52.79
10-abr-21	11:00 a. m.	26.3	7.5	1110	49.17
15-may-21	12:00 p. m.	25	7.6	1126	56.51
		EFLUENTE			
15-mar-21	11:45 a. m.	22.5	7.5	1020	52.79
10-abr-21	11:15 a. m.	23.2	7.9	1046	49.17
15-may-21	12:15 p. m.	24	7.7	1050	50.32
		INFLUENTE			
15-sep-21	11:00 a. m.	26.1	6.3	1526	55.4
10-oct-21	10:30 a. m.	23.7	7.5	1109	52.6
19-nov-21	10:30 a. m.	23.8	7	1687	53.2
		EFLUENTE			
15-sep-21	11:15 a. m.	24.3	6.5	1254	54.9
10-oct-21	10:50 a. m.	24.7	7	1278	52.1
19-nov-21	10:45 a. m.	23.1	6.4	1183	50.7

El diseño experimental esta basado en los siguientes pasos :

VIII.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:

- **ALMACENAMIENTO.** Las muestras se refrigeraron a 4 °C inmediatamente después de recogerlas, siendo procesadas dentro de las siguientes 24 horas para reducir o evitar la degradación del ARN viral, (Buitrón et al, 2020), (Medema et al, 2020).
- **HOMOGENIZACIÓN.** Las muestras de aguas residuales líquidas y de lodos secundarios se mezclaron bien antes de extraer porciones para su procesamiento.
- **CLARIFICACIÓN.** Las muestras de agua cruda se clarificaron para eliminar los sólidos grandes ya que facilitan los pasos subsiguientes de concentración por filtración si se utilizan para concentrar la muestra.

VIII.2 CONCENTRACIÓN DE LAS MUESTRAS:

Este paso puede mejorar la detección del ARN del SARS-CoV-2, puede ser más favorable en el caso de las muestras de aguas residuales sin tratar que en las muestras de lodo primario. El método que se utilizó para la concentración de muestras fue la centrifugación de alta velocidad a 4000 rpm durante 30 minutos, este método consiste en separar sólidos de líquidos de diferente densidad por medio de una fuerza de mayor intensidad que la gravedad, provocando la sedimentación de los sólidos y así poder en este caso, transferir el virus a la fase acuosa.

VIII.3 EXTRACCIÓN VIRAL

El procedimiento de extracción de ARN viral comprende el lisado de las células y la homogenización de la muestra para el ARN y recuperarlo por separación de fases.

La prueba rápida utilizada emplea un control interno de ARN para la preparación de muestras y el control de la amplificación. Se utilizó un casete de prueba de anticuerpos IgG e IgM de la marca ACCUTEST (comercializada en farmacias), que se basa en un inmunoensayo de cromatografía de flujo lateral para la detección cualitativa y diferenciada de la presencia de

anticuerpos creados por el virus SARS-CoV-2 para la determinación de anticuerpos virales por medio de una muestra de sangre, suero o plasma.

IX. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

La estrategia empleada de la prueba es la siguiente:

Se debe colocar una gota (aproximadamente 20 μ L) de muestra de agua residual en el orificio de prueba, posteriormente agregar 2 gotas de solución buffer e iniciar el temporizador. El tiempo de espera para que aparezcan las líneas coloreadas y se interpreten los resultados es de 10 minutos, éstos deben expresarse de la siguiente manera:

IgG-/IgM- No existe evidencia de infección por SARS-CoV-2

IgM+/IgG- Probable infección reciente sin anticuerpos protectores

IgG+/IgM+ Probable infección reciente con anticuerpos protectores en desarrollo

IgM-/IgG+ Probable infección pasada con anticuerpos protectores

Para cada muestra de agua cruda, lodo activado y agua tratada se tomaron 10 μ L y se adicionaron dentro del orificio del cassette de prueba junto con una gota de diluyente. El tiempo de espera para que la prueba arrojara resultados fue de 1 a 2 minutos.

IX.1 SITIOS DE MUESTREO

Las aguas residuales del Municipio de Zacatepec de 36,000 habitantes fueron muestreadas a lo largo del proceso de tratamiento en la PTAR Municipal, figura 5, en el periodo comprendido de finales de 2020 hasta abril de 2022. Las aguas residuales pasan a través de una red de alcantarillado hasta llegar a la línea de tratamiento (colector de 36”) a una distancia de aproximadamente 1 km de la colonia más cercana. El sistema de tratamiento básicamente consiste en los siguientes bloques: pretratamiento, desarenado, tratamiento secundario, sedimentación secundaria, desinfección y tratamiento de lodos.

Se muestrearon 3 ubicaciones para las aguas residuales y línea de lodos: 1) influente, 2) lodos activados de recirculación y 3) efluente con desinfección y sin desinfección. El tiempo de residencia hidráulico es de aproximadamente 40 horas, lo que garantiza una buena eficiencia

de remoción. Las características fisicoquímicas de las aguas residuales en la PTAR se muestran en la tabla 7.

Plar Zacatepec
Jojutla de Juárez, Mor.
18.639692,-99.193609

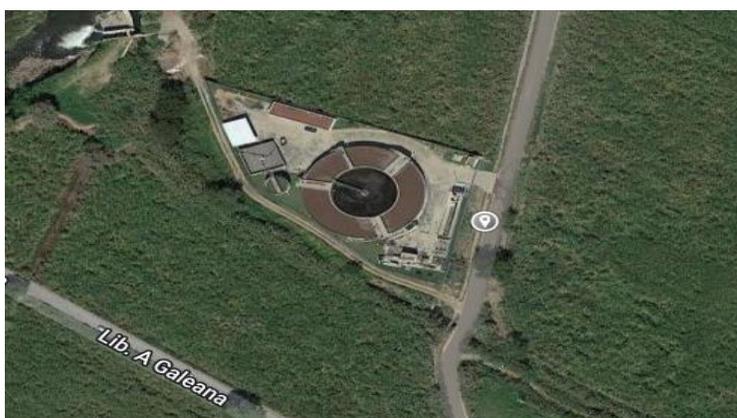


Figura 6. Ubicación geográfica del sitio de muestreo, PTAR Zacatepec. Fuente: Google maps.

Tabla 7. Análisis de las aguas residuales en el efluente de la PTAR Zacatepec. Resultados reportados por el laboratorio de pruebas ECCACIV S.A. DE C.V.

PARAMETRO	RESULTADO	UNIDAD	FECHA DE ANALISIS	METODO DE REFERENCIA
DOO	<40	mg/L	29-nov-21	NMX-AA-030/2-SCFI-2011
SST	<20	mg/L	29-nov-21	NMX-AA-034-SCFI-2015
G Y A	<9,0000	mg/L	14-dic-21	ECC-PANA-FQ-26
NTK	<7,0	mg/L	06-dic-21	NMX-AA-026-SCFI-2010
N. DE NITRATOS	1,044	mg/L	25-nov-21	NMX-AA-079-SCFI-2001
N. DE NITRITOS	0,022	mg/L	25-nov-21	NMX-AA-099-SCFI-2006
FOSFORO	«0,30	mg/L	03-dic-21	NMX-AA-029-SCFI-2001
ARSENICO	0,0025	mg/L	01-dic-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
CADMIO	<0,040	mg/L	02-dic-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
COBRE	<0,100	mg/L	02-dic-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
CROMO	<0,200	mg/L	02-dic-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
MERCURIO	<0,0030	mg/L	27-nov-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
NÍQUEL	<0,200	mg/L	02-dic-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
PLOMO	*0,200	mg/L	02-dic-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
ZINC	0,118	mg/L	02-dic-21	NMX-AA-051-SCFI-2016
DBO5	*6,00	mg/L	25-nov-21	NMX-AA-028-SCFI-2001
SOLIDOS SEDIMENTABLES	«0,1	mL/L	25-nov-21	NMX-AA-004—SCFI-2013
COLIFORMES FECALES	91	NMP/100ml	25-nov-21	ECC-PANA-MB-02
H. HELMINTO	WD	H/L	26-nov-21	NMX-AA-113-SCFI-2012
CIANUROS	*0,0200	mg/L	25-nov-21	ECC-PANA-FQ-27

IX.2 TOMA DE MUESTRAS

Se recolectaron un total de 29 muestras simples de aguas residuales y lodos de recirculación desde el 15 de marzo de 2021 hasta el 03 de abril de 2022, muestreando manualmente con el equipo de protección adecuado. Una vez tomadas se almacenaron a una temperatura de entre 4 y 5 °C para su posterior análisis en el laboratorio interno de la PTAR.

X. MATERIALES Y METODOLOGÍA

El método empleado para la vigilancia ambiental de SARS-CoV-2 en aguas residuales fue la detección de anticuerpos virales IgG e IgM mediante un test de prueba de la marca ACCUTEST, el cual arroja resultados por medio de líneas de detección que se colorean cuando existe la presencia de los anticuerpos mencionados como se muestra en la figura 7.

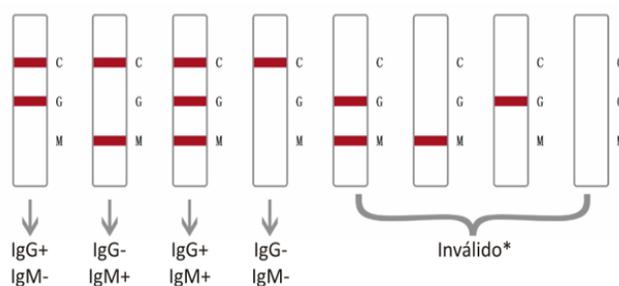


Figura 7. Interpretación de resultados para la prueba de anticuerpos ACCUTEST

El equipo y los materiales empleados fueron los siguientes:

- Equipo de centrifugación marca Eppendorf
- Parrilla de agitación magnética
- Equipo de filtración al vacío
- Test de prueba de anticuerpos
- Tiras reactivas de pH
- Agitadores magnéticos
- Cono Imhoff
- Vasos esterilizados para la recolección de muestras
- Vasos de precipitado 250 mL
- Tubos falcon
- Matraces de diferentes volúmenes
- Agitadores magnéticos
- Guantes de látex
- Membranas de filtración de 0.45 μ m

A continuación se muestra el diagrama de flujo de la metodología, donde se simplifican los pasos a seguir en la investigación, figura 8:

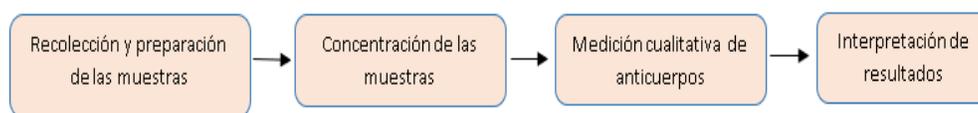


Figura 8. Diagrama de flujo experimental en la detección del virus SARS-CoV-2 en aguas residuales

XI. PROCEDIMIENTO

XI.1 ANÁLISIS DE LABORATORIO

Para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales, se aplicó un protocolo basado en la epidemiología de aguas residuales que incluye el proceso de concentración basado en la precipitación por gravedad, seguido de centrifugación de alta velocidad a 4000 rpm durante 30 minutos, con esto se logra transferir el virus a la fase acuosa. Para cada muestra (agua cruda, tratada y lodos) primeramente se llevó a agitación magnética para transferir el virus a la fase acuosa y mejorar la detección. La centrifugación únicamente se aplicó para las muestras de lodos secundarios. Se utilizó el kit de anticuerpos virales de la marca ACCUTEST durante todo el ciclo de muestreo. En cada muestra siempre mantuvo el monitoreo de parámetros básicos: pH, conductividad eléctrica y temperatura.

XI.2 PRECIPITACIÓN VIRAL

El almacenamiento y transporte de las muestras se controló durante todo el proceso hasta su llegada al laboratorio. Se tomaron muestras de 100 mL las cuales fueron puestas en agitación a 600 rpm durante 30 minutos, figura 8. Se centrifugaron muestras de lodo de 50 mL en tubos falcon a 4000 rpm durante 30 minutos, figura 9. Posteriormente se filtraron al vacío para eliminar partículas restantes y poder mejorar la detección en la prueba, figura 10.



Figura 9. Agitación de muestras (600 rpm).



Figura 10. Centrifugación de muestras.



Figura 11. Filtración de muestras al vacío.

XII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la comparación de los resultados desde el análisis de la primera muestra hasta la última en todos los sitios de muestreo dentro de la PTAR algunas mostraron una señal detectable para las regiones o anticuerpos IgG e IgM del SARS-CoV-2, figura 12; recordando que algunas condiciones ambientales tales como el pH, la temperatura y los sólidos pueden ser favorables para la persistencia del virus, sobre todo en el influente donde hay gran

concentración de sólidos disueltos y esto ayuda a que el virus se encapsule en ellos y no pueda eliminarse en el pretratamiento.

Por otra parte al tener condiciones de pH en un rango de 6 a 8 y una temperatura no mayor a los 27°C en el agua puede permitir que el virus persista en el medio, siempre y cuando no exista un proceso terciario de desinfección, el cual no fue el caso ya que la PTAR en todo momento cuenta con hipoclorito de sodio a 1.5 mg/L en el efluente y luz UV para la inactivación de agentes patógenos.

Estudios realizados a inicios de la pandemia, sugieren que el virus puede ser detectable en corrientes de aguas residuales a partir de 10 a 15 días después de detectar la infección, (Medema et al, 2020), esto concuerda con brotes de infección reportados por las autoridades de salud, ya que en los meses de marzo y abril surgieron nuevos casos a pesar de que la población contaba con vacunas aplicadas, y que se pudo detectar en el influente de la PTAR. Los resultados obtenidos durante todo el periodo de muestreo se muestran en la tabla 8.

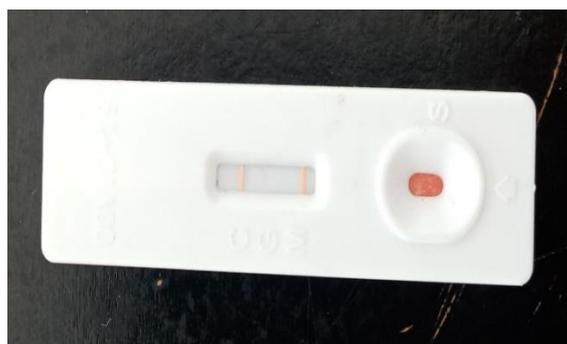


Figura 12. Apreciación de resultado positivo en dos anticuerpos detectables para SARS-CoV-2.

Tabla 8. Resultados obtenidos en las pruebas aplicadas durante todo el periodo de muestreo. (n/a: no aplica).

FECHA	PUNTO DE MUESTREO		
	INFLUENTE	EFLUENTE	LODOS DE RECIRCULACION
RESULTADOS			
15-jul-21	n/a	n/a	Negativo
05-ago-21	n/a	n/a	Negativo
15-sep-21	positivo	negativo	n/a
22-sep-21	positivo	negativo	n/a
10-oct-21	positivo	negativo	n/a
25-oct-21	negativo	negativo	n/a
19-nov-21	n/a	negativo	Negativo

20-ene-22	Negativo	negativo	Negativo
15-feb-22	Negativo	negativo	Negativo
03-abr-22	positivo IgG	negativo	Negativo

De acuerdo con los resultados de la tabla 8, para las muestras tomadas y procesadas durante los meses de enero y febrero del 2022, no se identificó ningún anticuerpo presente en las tres etapas del tratamiento, probablemente debido a que la mayoría de las personas habitantes del municipio han pasado por todo el esquema de vacunación, lo cual es un punto a favor ya que a diferencia de los pasados resultados hubo un cambio notable y satisfactorio. En cuanto a la prueba aplicada el mes de abril que nos arrojó un resultado positivo, coincidió con un nuevo brote que se notificó por las autoridades de salud estatales, figura 13, (SSM, 2022).

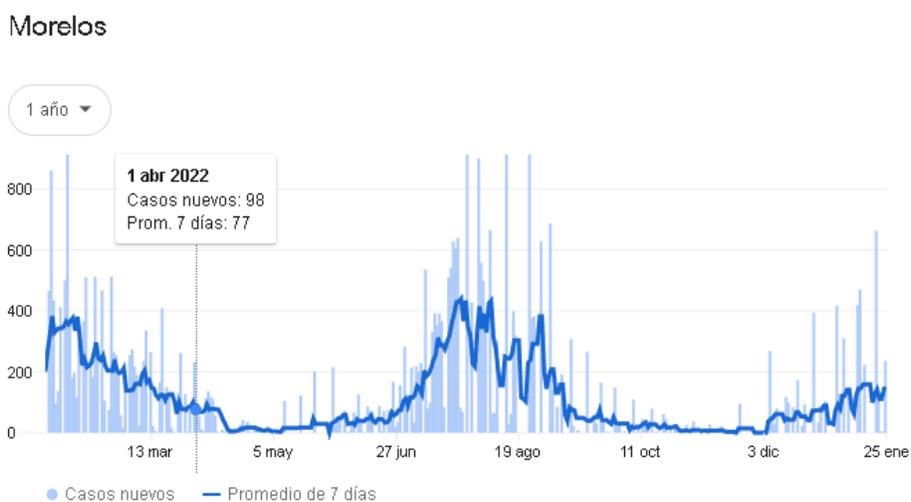


Figura 13. Casos confirmados de COVID-19 en Morelos durante el 2022. Repositorio de datos COVID-19 por el Centro de Ciencia e Ingeniería de Sistemas (CSSE) de la Universidad Johns Hopkins.

En cuanto a las muestras de efluente ninguna resultó positiva para anticuerpos de SARS-CoV-2 analizados. Cabe mencionar que el efluente de la PTAR se mantenía con proceso de desinfección durante las etapas de muestreo, lo cuál garantizó una alta remoción de contaminantes presentes. Tal como lo mencionó la (OMS 2020), es posible una inactivación eficaz en un minuto utilizando desinfectantes habituales como etanol al 70% o hipoclorito de sodio al 0.1%, este último empleado en la PTAR. Durante el estudio, la planta de tratamientos de Zacatepec mantenía todo el tren de tratamiento operando al 100% de su capacidad; desde el pretratamiento, tratamiento secundario, filtración por mallas y desinfección con hipoclorito de sodio, así como el monitoreo de los parámetros de campo

tales como el pH en un rango de 6-8, temperatura de 22-27°C, sin embargo, algunos coronavirus pueden persistir en aguas residuales de 3 a 5 días a una temperatura de 23°C, (Carraturo et al, 2020). Con esto se demostró la eficacia de la PTAR para la eliminación de agentes patógenos (virus y bacterias), no obstante, se debe conscientizar a todos aquellos organismos prestadores de servicios de agua potable y saneamiento públicos y privados a operar de una correcta manera sus instalaciones.

La vigilancia de las aguas residuales para el monitoreo de las concentraciones de ARN del SAR-CoV-2 constituye un enfoque factible y de bajo costo para rastrear la propagación del virus en la comunidad. El modelo de la epidemiología de aguas residuales ya se había implementado con anterioridad en estudios pasados para la identificación de drogas consumidas en una población, indica que es una herramienta segura, confiable y que se puede utilizar para monitorear las tendencias y la dinámica de propagación de virus. La interpretación de los resultados en general, puede variar e influir en las características de operación de cada PTAR, así como la composición y propiedades fisicoquímicas de las muestras de agua residual, parámetros ambientales, procedimientos de muestreo, cambios en las prácticas de vigilancia y alteración en las propiedades del virus.

El ARN del SARS-CoV-2 puede ingresar al sistema de alcantarillado a través de aguas residuales descargadas de hogares y otros establecimientos frecuentemente habitados por portadores activos, pero también de hospitales e instalaciones de aislamiento (Giacobbo et al, 2021), y puede ocurrir en varias formas en aguas residuales que incluyen al menos protegidas infecciosamente, protegidas no infecciosas y formas no protegidas (Wurtzer et al, 2020). Como se demostró en este estudio y en los reportados anteriormente en diferentes países del mundo, (Ahmed et al, 2020), (Medema et al, 2020), (G. La Rosa et al, 2020), las personas infectadas excretan el virus durante periodos prolongados, por lo tanto, las concentraciones de ARN de las aguas residuales se ven obviamente afectadas por los casos acumulados reportados antes del periodo de 7 días. Sin embargo, el periodo en que las personas infectadas excretan material genético de SARS-CoV-2 varía de persona a persona.

A pesar de los resultados positivos obtenidos en este estudio no se encontraron pruebas claras de que las mediciones de anticuerpos en aguas residuales puedan predecir los casos notificados. Sin embargo, en esta investigación se tomaron muestras durante el pico de la

pandemia en el municipio antes mencionado. Todavía no está claro si la epidemiología basada en aguas residuales puede abordar una limitación crítica de la vigilancia epidemiológica que es capturar la transmisión silenciosa del SARS-CoV-2 de casos asintomáticos y presintomáticos, un factor que contribuye sustancialmente a la aparición de brotes de COVID-19, (Huff et al, 2020).

Algunas limitaciones deben tenerse en cuenta durante la interpretación de los resultados. En algunos casos, se pudo observar que los resultados positivos pudieran ser los anticuerpos formados de SARS-CoV-2 y que probablemente podrían ser consecuencia de cambios en factores ambientales, fisicoquímicos como el pH debido a alguna descarga que altere el rango y la temperatura dependiendo las condiciones climatológicas, y biológicos. Afortunadamente, los métodos de análisis e interpretación de la presencia de SARS-CoV-2 en las aguas residuales avanzan continuamente. Además, si se estandarizan los procedimientos de muestreo y la optimización de los protocolos analíticos no solo aumentarán la confiabilidad, sino también la reproducibilidad y comparabilidad de los estudios realizados en diversos entornos ya que estarían aprobados por las instancias gubernamentales de salud públicas y privadas con el soporte de las diversas investigaciones y resultados comprobados sobre la presencia del virus del SARS-CoV-2 en aguas residuales que se han llevado a cabo durante la pandemia.

Medema et al, 2020, detectaron por primera vez el ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales en Holanda, el cual consideraron como una herramienta temprana de vigilancia de COVID-19 evidenciando la circulación del virus a pesar de la baja cantidad de casos confirmados. (Rimoldi et al, 2020), reportaron que el número de copias de ARN viral en agua se relaciona con el comportamiento de número de casos de COVID-19 y robustecen la evidencia sobre la detección y cuantificación de SARS-CoV-2 en agua residual cruda como herramienta para seguir el curso de la epidemia en el tiempo y sobre la capacidad de identificar el inicio, pico máximo y descenso de la presencia del virus en la comunidad con días de anticipación. Estos resultados demuestran que el virus del SARS-CoV-2 es detectable en aguas residuales entre 2 y 14 días dependiendo también de la temperatura, además la desinfección es una parte fundamental para inactivar todo tipo de virus y bacterias.

XIII. CONCLUSIONES

Las fuertes asociaciones entre las estimaciones basadas en aguas residuales y los casos reales de COVID-19 indican que el monitoreo de aguas residuales puede ser explotado por las autoridades de salud pública para aumentar los niveles de confianza en los resultados de las prácticas de vigilancia convencionales y puede identificar tendencias temporales de propagación de la enfermedad. La evidencia hasta ahora reportada, en la PTAR en el sur del estado de Morelos confirma que el virus del SARS-CoV-2 está presente en aguas residuales en sistemas de alcantarillado y plantas de tratamiento, por lo que puede llegar a ser una ruta de exposición significativa para la transmisión, por lo que es de suma importancia contemplar este virus en el tratamiento y desinfección del agua, especialmente aquellas que provengan de zonas de alto contagio como los hospitales, así como realizar monitoreos en las PTAR para determinar si el SARS-CoV-2 está presente, y puede llegar a ser transmisible, pero sobre todo si es eliminado durante los procesos de tratamiento convencionales.

XIV. PERSPECTIVAS

Se han realizado diversas investigaciones de alta calidad respecto a la detección y caracterización del SARS-CoV-2 en humanos y en el medio ambiente, así como centrándose en el tratamiento y prevención de la enfermedad de COVID-19, no obstante, se necesita información adicional sobre algunos aspectos como la detección y cuantificación viral del SARS-CoV-2 en aguas residuales de comunidades rurales y lo que se está haciendo para mejorar los procesos de tratamiento y eliminación de contaminantes, cabe señalar que se están produciendo mutaciones, y podrían afectar no solo a la transmisibilidad de persona a persona, sino también a las transmisiones entre especies animales, y/o para facilitar/ aumentar la transmisión a través de la vía fecal-oral, o afectar/modificar las características actuales de la transmisión por aerosoles o las transmisiones mediadas por superficies sólidas y líquidas. La investigación básica adicional debe centrarse en las condiciones ecológicas generales que favorecen la eventual propagación futura de pandemias. Investigaciones anteriores han advertido al respecto, y está claro que algunas actividades antropogénicas que afectan al medio ambiente tienen relevancia global en este sentido, ya que pueden resultar en probabilidades altamente mayores de transmisión de animales a humanos de

microorganismos patógenos que hasta ahora se habían restringido a hábitats naturales, cuando habían sufrido una baja presión antropogénica y modificación. En vista de ello, se deben realizar investigaciones adicionales para definir claramente las acciones globales y locales a tomar con el fin de evitar o minimizar las modificaciones ambientales que aumentan la probabilidad de favorecer nuevas pandemias por coronavirus o cualquier otro microorganismo patógeno.

Los estudios futuros deben centrarse en los mecanismos por los cuales diversos factores (físicoquímicos, analíticos, ambientales, biológicos) pueden afectar los niveles de ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales, con el fin de desarrollar metodologías novedosas que produzcan estimaciones más robustas y precisas. A pesar de la falta de datos sobre la supervivencia y la infectividad del SARS-CoV-2 en agua y alcantarillado y el contagio no confirmado a través de estas matrices acuosas, la infectividad de estos virus debe investigarse a fondo para evaluar los posibles riesgos para la salud, principalmente en lo que respecta a la posible transmisión a través de vías fecales-orales y cargadas de aerosoles con contenido viral. Esta información sería extremadamente importante, especialmente para las comunidades con saneamiento deficiente, donde es probable que las personas estén expuestas a agua contaminada o incluso a aguas residuales crudas.

Sin embargo, la humanidad está construyendo el conocimiento sobre la infectividad del SARS-CoV-2, lo que es muy importante para combatir, controlar y mitigar los efectos de la pandemia de COVID-19 para ambos propósitos: salvar vidas y la economía global. De lo contrario, la pandemia podría durar mucho tiempo, causando impactos mucho mayores de los que ya ha causado. Mientras tanto, debemos luchar contra la pandemia en curso actuando con rapidez pero con cautela, evaluando todas las posibles rutas de transmisión. En el caso particular de la infectividad del SARS-CoV-2 en aguas residuales y aguas, creemos que los estudios posteriores deberían abordar los siguientes puntos:

- Evaluar el comportamiento de los diferentes filtros en la etapa de prefiltración de la muestra, monitoreando la presión aplicada para determinar la velocidad de cizallamiento. Por lo tanto, eligiendo el filtro que permite el paso de la mayor fracción de virus envueltos vivos, pero que también es capaz de eliminar los sólidos suspendidos de la muestra.

- Investigar la posibilidad de utilizar membranas sumergidas a bajas presiones en los pasos de prefiltración y concentración.
- Determinar la proporción de virus activos (infecciosos) en cada etapa del procesamiento de la muestra, confirmando el análisis mediante pruebas de cultivo celular.
- Desarrollar técnicas alternativas que permitan confirmar la integridad física (viabilidad de los virus envueltos)
- Por último, desarrollar y estandarizar metodologías de pretratamiento y concentración específicamente para analizar virus envueltos en matrices acuosas complejas como aguas residuales y aguas naturales. Es importante destacar que la eficiencia de recuperación debe confirmarse mediante pruebas de cultivo celular y no sólo a través de análisis de PCR.

XIV.1 DETECCIÓN POST CONFINAMIENTO DE ARN DEL SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES

Varios informes indican que el ARN del SARS-CoV-2 se detectó fácilmente en las aguas residuales, y se propone que dicho enfoque podría anticipar la aparición de nuevos brotes de COVID-19 en regiones de baja prevalencia. Ahmed y col, 2020, La Rosa et al, 2020, Julie et al, 2020, monitorearon la aparición del virus en las aguas residuales de Francia, recolectaron muestras compuestas de efluentes de aguas residuales aguas arriba de la principal planta de tratamiento del área metropolitana de Montpellier, que recibe las aguas residuales de $\approx 470,000$ habitantes. Las fechas de muestreo fueron el 7, 18 y 26 de mayo, 4, 15, 25 de junio y 20 de julio para monitorear los niveles de expresión de ARN de SARS-CoV-2 durante el confinamiento y hasta 70 días después de su finalización. Durante este periodo, el virus seguía circulando en la zona, pero la incidencia era relativamente baja. Los conjuntos de cebadores/sondas N1 y N3 diseñados por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC), se utilizaron para detectar el ARN del SARS-CoV-2 y se ejecutó una curva estándar en paralelo utilizando un plásmido de control positivo que codifica para la nucleoproteína N del SARS-CoV-2. Utilizaron ARN extraído de células Vero E6 infectadas y no infectadas con SARS-CoV-2 *in vitro*, demostrando que los conjuntos de cebadores/sondas N1 y N3 reconocían únicamente el ARN de las células infectadas.

Medema et al, 2020, utilizó un sustituto de secuencia del virus del dengue (DENV) para determinar la eficiencia de la PCR. Sin embargo se han reportado casos autóctonos del virus del dengue en el área de Montpellier y, por lo tanto, (Julie et al, 2020), no pudo utilizar esa secuencia de ARN para el control, ya que podría estar contenida naturalmente en las aguas residuales a través de huevos de mosquitos infectados.

XV. REFERENCIAS

- A. Bivins, D. N. (2020). Epidemiología basada en aguas residuales: colaboración mundial para maximizar las contribuciones en la lucha contra la COVID-19. *Medio ambiente. Sci. Technol.*
- A. Bogler, A. P. (2020). Repensar los riesgos y el monitoreo de las aguas residuales a la luz de la pandemia de COVID-19. *Nat. Sostener*. Obtenido de 10.1038/s41893-020-00605-2
- A. Giacobbo, M. R. (2021). Una revisión crítica sobre la infectividad del SARS-CoV-2 en el agua y las aguas residuales. ¿Qué sabemos? *Sci. Total Environ.*
- A.H.S. Chik, M. B. (2021). Comparación de enfoques para cuantificar el SARS-CoV-2 en aguas residuales utilizando RT-qPCR: resultados e implicaciones de un estudio colaborativo entre laboratorios en Canadá. *J. Medio Ambiente.*
- Ahmed, E. Á. (2020). Primera detección confirmada de SARS-CoV-2 en aguas residuales sin tratar en Australia. *Sci. Entorno Total.*
- al, X.-W. W. (2003). Concentration and detection of SARS coronavirus in sewage from Xiao Tang Shan Hospital and the 309th Hospital. *ELSEVIER.*
- ambiente, E. i.-1. (2020). Manuel A. Zambrano, María Alejandra Ruano. *ELSEVIER*, 728.
- Amirian, E. (2020). Transmisión fecal potencial del SARS-CoV-2: evidencia actual e implicaciones para la salud pública. . *Science Direct.*
- B.E. Dutilh, N. C. (2014). Un bacteriófago muy abundante descubierto en las secuencias desconocidas de metagenomas fecales humanos. *Nat. Commun.*
- B.M. Pecson, E. D. (2021). Reproducibilidad y sensibilidad de 36 métodos para cuantificar la señal genética del SARS-CoV-2 en aguas residuales cudas: hallazgos de una evaluación de métodos entre laboratorios en los Estados Unidos. *Environ.Sci.Water Res.Technol.*
- Balboa, S. e. (2020). El destino del SARS-CoV-2 en las EDAR señala la línea de lodos como un lugar adecuado para el monitoreo . *medRxiv.*
- Bibby, K. V. (2011). Análisis del metagenoma viral para guiar patógenos humanos: seguimiento en muestras ambientales . *Apl. Microbiol.*
- Birr, B. (2020). Recuperado el 05 de 04 de 2020, de <https://www.aa.com.tr/en/health/single-use-items-not-safest-option-amid-covid-19/1787067>
- Brisebois, E. V. (2018). Los patógenos virales humanos son omnipresentes en los aerosoles de los centros de tratamiento de aguas residuales . *J. Environ sci.*
- Casanova, L. e. (2009). Supervivencia de los coronavirus en el agua . *Agua res.* .

- Cervantes, P. (2020). Enfoques aplicados para detectar SARS-CoV-2 en aguas residuales y perspectivas post COVID-19. *ELSEVIER*.
- Chan, K. P. (2004). Detección del coronavirus del SARS en pacientes con sospechas de SARS. *Infect. Dis.*
- Chen, N. Z. (2020). Características epidemiológicas y clínicas de 99 casos de neumonía por el nuevo coronavirus de 2019 en Wuhan, China: un estudio descriptivo. *Lancet*.
- Cheng, P. W. (2004). Patrones de diseminación viral del coronavirus en pacientes con probable síndrome respiratorio agudo severo. *Lancet*.
- Chin, A. C. (2020). Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *The Lancet Microbe*.
- Chin, A. e. (2020}). Estabilidad del SARS-CoV-2 en diferentes condiciones ambientales. *Lancet. Microbiol.*
- Choi, e. a. (2018). Biomarcadores epidemiológicos basados en aguas residuales: pasado, presente y futuro. *Trac. Trends. Anal. Chem.*
- CONAGUA. (s.f.). Operación y mantenimiento de Plantas de Tratamiento de aguas Residuales: Lodos activados. *MAPAS*.
- Corman, V. e. (2016). Exposición viral y respuesta de anticuerpos en 37 pacientes con infección por coronavirus del síndrome respiratorio de oriente medio. *Infect. Dis.* .
- Corman, V. e. (2020). Detección del nuevo coronavirus nCoV-2019 mediante RT-PCR en tiempo real. *Eurosurveillance*.
- Cui J., L. F. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev Microbiol.*
- D. Polo, M. Q.-B. (2020). Haciendo olas: epidemiología basada en aguas residuales para COVID-19: enfoques y desafíos para la vigilancia y la predicción. *Water Res.*
- Darnell, M. S. (2004). Inactivación del coronavirus que induce el síndrome respiratorio agudo severo SARS-CoV. *J. Virol.*
- Droste, R. G. (2018). Teoría y práctica del tratamiento de agua y aguas residuales .
- Drosten, C. e. (2013). Características clínicas y análisis virológico de un caso de infección por coronavirus del Síndrome respiratorio de oriente medio. *Infect. Dis.*
- Duong, D. (2021). ¿Qué es importante sobre las nuevas variantes de COVID-19? *CMAJ*.
- E. Zuccato, C. C. (2008). Estimación del abuso de drogas en la comunidad mediante análisis de aguas residuales. *Medio ambiente. Health Perspect.*
- Ehlers, M. G. (2005). Detección de enterovirus en aguas residuales no tratadas y suministro de agua potable en Sudáfrica. *Agua Res.*

- ESA. (2020). Recuperado el 04 de Abril de 2020, de https://www.esa.int/Applications/Observing_the_Earth/Copernicus/Sentinel-5P/Coronavirus_lockdown_leading_to_drop_in_pollution_across_Europe
- Federica Carraturo, C. D. (2020). Persistencia del SARS-CoV-2 en el medio ambiente y riesgo de transmisión COVID-19 de matrices y superficies ambientales. *Science Direct*.
- Francisco Vargas Marcos, M. R. (2020). Transmisión del SARS-CoV-2 por gotas, respiratorias, objetos contaminados y aerosoles. Revisión de evidencias. *Sociedad Española de Sanidad Ambiental*.
- Fredy Saguti, E. M. (2021). La vigilancia de las aguas residuales reveló picos de SARS-CoV-2 que precedieron a los de los pacientes hospitalizados con COVID-19. *ELSEVIER*.
- G. La Rosa, M. I. (2020). Primera detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales no tratadas en Italia. *Sci. Total Environ* .
- G. Medema, L. H. (2020). Presencia de ARN del SARS-Coronavirus-2 en las aguas residuales y correlación con la prevalencia de COVID-19 notificada en la etapa temprana de la epidemia en los Países Bajos. *Medio ambiente. Sci. Technol*.
- G.H. Reischer, D. K. (2007). Un ensayo cuantitativo de PCR en tiempo real para la detección altamente sensible y específica de la influencia fecal humana en aguas de manantial de una gran área de captación alpina. *Letón. Appl. Microbiol*.
- García, J. V. (2003). Papel del tiempo de retención hidráulica y medio granular en la eliminación de bacterias en cañaverales de tratamiento terciario. *Agua res*.
- García-Martínez, D. e. (2016). Implicaciones morfológicas y funcionales del dimorfismo sexual en el tórax esquelético humano . *Phys Anthropol* .
- Germán Buitrón, J. C. (2020). Vigilancia del SARS-CoV-2 en plantas de tratamiento de aguas residuales y alcantarillado en México. *Science Direct*, 6.
- Gorka Orive, D. B. (2020). Detección temprana de brotes de SARS-CoV-2 mediante epidemiología basada en aguas residuales . *ELSEVIER*, 732.
- Gundy, P. e. (2009). Supervivencia de coronavirus en agua y aguas residuales . *Ambiente alimentario* .
- H. Haider, R. S. (2016). Modelo de evaluación comparativa del rendimiento entre empresas de servicios públicos para pequeñas y medianas empresas de agua: índices de rendimiento agregados. *J. Recursos Hídricos*.
- H.V. Huff, A. S. (2020). Transmisión asintomática durante la pandemia de la enfermedad por coronavirus 2019 e implicaciones para las estrategias de salud pública. *Clin. Infecta. Dis*.
- Haas, C. e. (2014). Agentes microbianos y transmisión . *Jonh Wiley & Sons Inc*.

- Hart, H. e. (2020). Análisis computacional de SARS-CoV-2 y vigilancia por epidemiología basada en aguas residuales a nivel local y global. *Sci. Entorno total*.
- Hemida, M. (2019). Síndrome respiratorio de oriente medio coronavirus y la única salud.
- Holshue, C. D. (2020). Primer caso del nuevo coronavirus 2019 en Estados Unidos. *J. Med.*
- Hyatt Green, M. W. (2020). Quantification of SARS-CoV-2 and cross-assembly phage (crAssphage) from wastewater to monitor coronavirus transmission within communities. *medRxiv*, 18.
- I. Michael-Kordatou, P. K.-K. (2020). El análisis de aguas residuales como herramienta para la respuesta y gestión de la pandemia de COVID-19: la necesidad urgente de protocolos optimizados para la detección y cuantificación del SARS-CoV-2. *J. Medio Ambiente. Chem. Eng.*
- Isaac Denis Amoah, S. K. (2020). Coronavirus en procesos de aguas residuales: origen, destino y riesgos potenciales . *ELSEVIER*.
- J. Peccia, A. Z. (2020). La medición del ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales sigue la dinámica de la infección en la comunidad . *nature biotechnology*.
- Jinyong Wu, Z. W. (2021). WBE del SARS-CoV-2 . *ELSEVIER*.
- Julie Trotter, R. D. (2020). Detección posterior al confinamiento del ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales de Montpellier, Francia. *ELSEVIER*.
- K. Hill, A. Z. (2020). SARS-CoV-2: Implicaciones para el sector del agua y epidemiología basada en aguas residuales para apoyar las respuestas nacionales en todo el mundo, revisión temprana de las experiencias mundiales con la pandemia de COVID-19 . *Water Qual. Res.*
- K.A. Khan, P. C. (2020). Presencia de desajustes entre los ensayos diagnósticos de PCR y el genoma del coronavirus SARS-CoV-2. *R. Soc. open Sci.*
- Kampf, G. e. (2020). Persistencia de coronavirus en superficies inanimadas y su inactivación con agentes biocidas. *J. Hosp. Infectar* .
- Kocamemi, B. e. (2020). Detección de SARS-CoV-2 en lodo de la planta de tratamiento de aguas residuales de Estambul . *medRxiv*.
- L. Falzone, e. a. (2020). Evaluación de la sensibilidad de la PCR digital de gotitas para la detección de SARS-CoV-2 . *Science direct* .
- Lamb, L. e. (2020). Detección rápida de coronavirus (COVID-19) por amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa . *SSRN*.
- Lee, P.-I. e. (2020). Amenazas emergentes de coronavirus zoonóticos de SARS y MERS a 2019-nCoV. *Inmunol infectar*.

- Lin, K. M. (2017). Aerosolización de sustitutos del virus del Ébola en sistemas de aguas residuales . *Reinar Sci. Technol.*
- Ling, Y, X. e. (2020). La persistencia y eliminación del ARN viral en sobrevivientes de la enfermedad del nuevo coronavirus de 2019. *Medic. J.*
- Lu, R. W. (2020). Detección de SARS-CoV-2 utilizando PCR digital para el diagnóstico de COVID-19, seguimiento del tratamiento y criterios de alta . *medRxiv.*
- M. Hamouda, F. M. (2021). Vigilancia de aguas residuales para SARS-CoV-2: lecciones aprendidas de estudios recientes para definir aplicaciones futuras. *Sci. Total Environ.*
- M. Koivusalo, T. V. (1997). Subproductos de la cloración del agua potable y cáncer. *Medio ambiente, salud.*
- M. Kumar, A. P. (2020). Primera prueba de la capacidad de vigilancia de aguas residuales para COVID-19 en India a través de la detección de material genético del SARS-CoV-2. *Sci. Total Environ.*
- M. Liu, S. T. (2020). Sistema de decisión de reciclaje de papel de desecho basado en el análisis de flujo de materiales y la evaluación del ciclo de vida: un estudio de caso de reciclaje de papel de desecho de China . *J. Medio Ambiente.*
- M.E. Verbyla, M. V. (2017). Estanques de estabilización de residuos. *Water and sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project).*
- M.H. Jafferli, K. K. (2021). Métodos de evaluación comparativa de la concentración de virus para la cuantificación del SARS-CoV-2 en aguas residuales crudas. *Sci. Total Environ.*
- Mariani, A. e. (2018). Cadena de ARN impulsada por pH y separación en condiciones prebióticamente plausibles. *Biochem.*
- Medema, e. a. (25 de julio de 2020). Presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales. *medRxiv*, pág. 9.
- Morelos, S. d. (1 de abril de 2022). Obtenido de <https://salud.morelos.gob.mx/noticias/comunicado-de-prensa-secretaria-de-salud-687>
- Mourad, M. (2016). Reciclaje, recuperación, y prevención del "desperdicio de alimentos": soluciones competitivas para la sostenibilidad de los sistemas alimentarios en los Estados Unidos y Francia. *J. Limpio.*
- N. Alygizakis, A. M. (2021). Metodologías analíticas para la detección del SARS-CoV-2 en aguas residuales: protocolos y perspectivas de futuro. *Tendencias Anal. Chem.*
- Nomoto, H. e. (2020). Manejo cauteloso de la orina de pacientes con COVID-19 de moderada a grave. *J. Infect. control .*

- Núñez-Delgado, A. (2020). ¿Qué sabemos sobre el coronavirus SARS-CoV-2 en el medio ambiente? *Sci. Total Environ.*
- O.C. Shanks, C. K. (2009). PCR cuantitativa para marcadores genéticos de contaminación fecal humana. *Appl. Medio Ambiente. Microbiol.*
- OMS. (2020). Agua, Saneamiento, Higiene y Gestión de Residuos por el COVID-19: Informe técnico.
- OMS. (2020). Síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV).
- Ong, S. T. (2020). Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA.*
- P. Foladori, F. C. (2020). SARS-CoV-2 de las heces al tratamiento de aguas residuales: ¿qué sabemos? Una reseña. *Sci. Total Environ.*
- P.M. D'Aoust, E. M. (2021). Análisis cuantitativo del ARN del SARS-CoV-2 a partir de sólidos de aguas residuales en comunidades con baja incidencia y prevalencia de COVID-19. *Water res.*
- Park, G. e. (2020a). Desarrollo de ensayos de amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa (RT-LAMP) dirigidos al SARS-CoV-2 . *J. Mol. Diagn.*
- Park, S. e. (2020). Detección de SARS-CoV-2 en muestras fecales de pacientes con COVID-19 asintomático y leve en Corea. *Clin. Gastroenterol.*
- Peccia, J. Z. (2020). Concentraciones de ARN de SARS-CoV-2 en lodos de aguas residuales municipales primarios como indicador principal de COVID-19. *medRxiv.*
- Picó, L. y. (2019). Epidemiología basada en aguas residuales: estado actual y perspectivas futuras. *Medio Ambiente, Sci. salud.*
- Pinon, A. V. (2018). Supervivencia de virus en agua. *Intervirología .*
- Poissy, J. G. (2014). Cinética y patrón de excreción viral en muestras biológicas de dos casos de MERS-CoV. *J. Clin. Virol.*
- Prado, T. e. (2019). Norovirus en aguas residuales sin tratar, efluentes secundarios y agua regenerada producida por filtros de arena-antracita y biorreactor de membrana/ sistema de ósmosis inversa. *Sci. Entorno total.*
- Prado, T. G. (2014). Detección de virus entéricos en actividad de lodo depurado por métodos factibles de concentración. *J. Microbiol.*
- Pyankov, O. e. (2018). Supervivencia de coronavirus aerosolizado en el ambiente . *J. Aerosol. Sci.*

- Q. Bi, Y. W. (2020). Epidemiología y transmisión de COVID-19 en 391 casos y 1286 de sus contactos cercanos en Shenzhen, China: un estudio de cohorte retrospectivo. *Lancet Infect. Dis.*
- Q.X. Long, X. T. (2020). Evaluación clínica e inmunológica de las infecciones asintomáticas por SARS-CoV-2. *Nat. Med.*
- Q.Y. Gao, Y. C. (2020). Infección por el nuevo coronavirus 2019 y tracto gastrointestinal. *J. Excavación. Dis.*
- R. Wolfel, V. C. (2020). Evaluación virológica de pacientes hospitalizados con COVID-2019. *Naturaleza.*
- R. Wolfel, V. C. (2020). Evaluación virológica de pacientes hospitalizados con COVID-2019. *NATURE.*
- R.A. Haugland, M. V. (2010). Evaluación de marcadores genéticos de la región V2 del gen 16S rRNA para su uso en la detección cuantitativa de especies seleccionadas de Bacteroidales y desechos fecales humanos por qPCR. *Syst. Appl. Microbiol.*
- Rachel West, A. K. (2021). COVID-19 Antibody Tests: A Valuable Public Health Tool with Limited Relevance to Individuals. *ELSEVIER.*
- Randazzo. W., e. a. (2020). El ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales anticipó la ocurrencia de COVID-19 en un área de baja prevalencia. *Agua res.*
- Raquel Cela-DaBlanca, V. S. (2021). SARS-CoV-2 y otros microorganismos patógenos principales en el medio ambiente: Situación en Galicia y España. *ELSEVIER.*
- Reboud, G. X. (2019). Microfluídica basada en papel para el diagnóstico de ADN de la malaria en comunidades rurales desatendidas de bajos recursos. *Proc. Natl. Acad. Sci.,*
- Rimoldi, S. S. (2020). Presencia y vitalidad del virus SARS-CoV-2 en aguas residuales y ríos. *medRxiv.*
- S. Lucrezi, M. S. (2016). Una herramienta de evaluación para playas de arena: un estudio de caso para integrar la descripción de la playa, la dimensión humana y los factores económicos para identificar cuestiones prioritarias de gestión.
- S. Westhaus, F. W. (2020). Detección del SARS-CoV-2 en aguas residuales crudas y tratadas en Alemania: idoneidad para la vigilancia de la COVID-19 y posibles riesgos de transmisión. *Sci. Total environ.*
- Sidhu, J. e. (2018). Eliminación de virus entéricos y colifagos durante los procesos de tratamiento de aguas residuales en un entorno subtropical. *Sci. Entorno total.*
- Sobsey, M. e. (2003). Supervivencia del virus en el medio ambiente en las gotas de aguas residuales y otros medios ambientales de origen fecal o respiratorio. *Informe para la Organización Mundial de la Salud.*

- SSM, S. d. (Abril de 2022). *SSM*. Obtenido de <https://salud.morelos.gob.mx/panorama-estatal?page=38>
- T. Asano, F. B. (2007). *Problemas, tecnologías y aplicaciones de reutilización del agua* (1a ed.). McGraw-Hill.
- Taboada-Santos, A. e. (2020). Comparación exhaustiva de tratamientos primarios químicamente mejorados y tratamientos de alta tasa de lodos activados en nuevas configuraciones de plantas de tratamiento de aguas residuales . *Agua res*.
- Takashi Asano, F. B. (2007). *Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications*. Matcalf & Eddy.
- UN. Tang, Z. T. (2020). Detección del nuevo coronavirus mediante RT-PCR en muestras de heces de niños asintomáticos, China. *Emerger. Infecta. Dis*.
- Van Doremalen, N. B., & Morris, D. e. (2020). Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J. Med*.
- Van Leuken, J. e. (2016). Modelización de la dispersión atmosférica de bioaerosoles que son patógenos para los seres humanos y el ganado: una revisión para fundamentar los estudios de evaluación de riesgos . *Riesgo A*.
- Wan, Y. Z. (2020). Reconocimiento del receptor del coronavirus de Wuhan: un análisis basado en estudios estructurales de una década del coronavirus del SARS . *J. Virol*.
- Wang, D. H. (2020). Características clínicas de 138 pacientes hoospitalizados con nuemonía infectada por el nuevo coronavirus de 2019 en Wuhan, China. *Jama*.
- Wang, X. e. (2005c). Concentración y detección del coronavirus del SARS en las aguas residuales del Hospital Xiao Tang Shan del ejército popular de Liberación de China. *Water Sci. Technol*.
- Wang, X. L. (2005b). Estudio sobre la resistencia del coronavirus asociado al síndrome respiratorio agudo severo. *J. Virol*.
- Wigginton, K. e. (2012). Mecanismos de inactivación de virus: impacto de los desinfectantes en la función del virus y la integridad estructural. *Reinar Sci. Technol*.
- Wu, F. X. (2020). Los títulos de SARS-CoV-2 en aguas residuales son más altos de lo esperado de casos clínicamente confirmados. *medRxiv*.
- Wu, Y. G. (2020). Presencia prolongada de ARN viral de SARS-CoV-2 en muestras fecales. *The Lancet Gastroenterol y Hepatol*.
- Wurtzer, S. e. (2020). Transcurso el tiempo cuantitativo: la detección de SARS-CoV-2 en las aguas residuales de París se correlaciona con los casos confirmados de COVID-19. *medRxiv*.

- Xagorakaki, I. O. (2020). Epidemiología basada en aguas residuales para la detección temprana de brotes virales en el agua. *Springer Cham*.
- Xiao, S. L. (2017). Papel de los fómites en la transmisión del SARS durante el mayor brote hospitalario de Hong Kong. *Plos ONE*.
- Xu, D. Z. (2005). Excreción persistente de SARS-CoV viable en la orina y en las heces de los pacientes con SARS durante la fase de convalecencia. *Infect Dis*.
- Y.M. Bar-On, A. F. (2020). SARS-CoV-2 (COVID-19) en cifras. *eLife*.
- Yang, J. Z. (2020). Prevalencia de comorbilidades en la infección por el nuevo coronavirus de Wuhan COVID-19: Revisión sistemática y metanálisis. *Infect. Dis. .*
- Ye, E. e. (2016). Supervivencia, partición y recuperación de virus envueltos en aguas residuales municipales no tratadas. *Reinar. Ciencia y Tecnología*.
- Ye, Y. e. (2016). Supervivencia, partición y recuperación de virus envueltos en aguas residuales municipales sin tratar. *Reinar Sci. Technol*.
- Yeo, C. e. (2020). Afectación entérica de los coronavirus: ¿es posible la transmisión fecal-oral del SARS-CoV-2? *Lancet Gastroenterol*.
- Yeo, C. K. (2020). Afectación entérica de los coronavirus: ¿es posible la transmisión de SARS-CoV-2 fecal-oral? *Lancet Gastroenterol*.
- Zambrano-Monserrate, M. A. (2020). Efectos indirectos de COVID-19 en el medio ambiente. *ELSEVIER*, 728.
- Zhang, J. e. (2020). Diagnóstico de muestras fecales del nuevo coronavirus nCoV 2019. *Med. Virol*.
- Zhang, X. J. (2017). Impactos transfronterizos en la salud de la contaminación atmosférica mundial transportada y el comercio internacional. *NATURE*.
- Zhang, Y. C. (2020). Aislamiento de nCoV-2019 de una muestra de heces de un caso confirmado de laboratorio de la enfermedad por coronavirus (COVID-19). *CDC Weekly*.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Facultad de Ciencias
Químicas e Ingeniería

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS e INGENIERÍA

Programas educativos de calidad reconocidos por CIEES, CACEI y CONACYT
SGI certificado en la norma ISO 9001:2015 e ISO 21001:2018

FORMATO T-2
NOMBRAMIENTO DE COMISIÓN REVISORA
Y DICTAMEN DE REVISIÓN

Cuernavaca, Mor., a 7 de junio de 2023.

DR. HUGO ALBEIRO SALDARRIAGA NOREÑA
DRA. FERNANDA MORALES GUZMÁN
DR. CÉSAR TORRES SEGUNDO
DRA. JOSEFINA VERGARA SÁNCHEZ
DR. MARIO ALFONSO MURILLO TOVAR
P R E S E N T E

Por este conducto, me permito informarle que ha sido asignado como integrante de la Comisión Revisora de la tesis que presenta EDUARDO GARCÍA REYES, titulada: MONITOREO DE LA PRESENCIA DEL VIRUS SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES DE ZACATEPEC MORELOS, realizada bajo la dirección de la DRA. JOSEFINA VERGARA SÁNCHEZ del Programa Educativo de Maestría en Ingeniería Ambiental y Tecnologías Sustentables. Agradezco su valiosa participación en esta Comisión y quedo a sus órdenes para cualquier aclaración o duda al respecto.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

DRA. VIRIDIANA AYDEÉ LEÓN HERNÁNDEZ
DIRECTORA DE LA FCQEI

D I C T A M E N

DRA. VIRIDIANA AYDEÉ LEÓN HERNÁNDEZ
DIRECTORA DE LA FCQEI
P R E S E N T E

En respuesta a su amable solicitud para formar parte de la Comisión Revisora de la tesis mencionada y una vez realizada la revisión correspondiente, me permito informarle que mi VOTO es:

DICTAMEN

NOMBRE	VOTO	FIRMA
DR. HUGO ALBEIRO SALDARRIAGA NOREÑA		
DRA. FERNANDA MORALES GUZMÁN		
DR. CÉSAR TORRES SEGUNDO		
DRA. JOSEFINA VERGARA SÁNCHEZ		

DR. MARIO ALFONSO MURILLO TOVAR		
---------------------------------	--	--

Se anexan firmas electrónicas

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VIRIDIANA AYDEE LEON HERNANDEZ | Fecha:2023-06-07 23:02:41 | Firmante
Gtim0z6L201t5c5idolhBlKrnNS75LeKYkGRYIgNdo7ff4mDU4OfkSyGOQ4IJGFJCWfEeTG1Wsp8d+nIEH0VFOkVMPf6nEBiJN1d+7wNwcEEA9QOCn8H+usa7FKXI+WZrJb7Nh
7YmhmmApvt2Y9Ct5nEfEyRRjSqQEMnVnQymjfs/zbFWwyaX3BWW3qPJSC3K79smglnIMTDR8PK2ow1cZlonyAyI9YAr08LtDPSycHVNlcEqX8fGkvd0MWuY3YDLLeEQdj+jkBuM
UbboidTQJe1ZrjKgd0/VIKgtog52xH6mcZlv+Xi84JDOhdb+JQCjmomhIPBVjk3N7NXmh2rQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



1K9hoX0ar

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/WYmftsglSeHL8fv9fhqldQsiAcNIZzj>

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSEFINA VERGARA SANCHEZ | Fecha:2023-06-09 12:52:10 | Firmante

e+ePSGtW6+QoUw+zaa99pBt+d9heLRwOO2BIB+56BJCJjNkjiUnxp73hW/KBZy7z7DAei5tQ4POMql/eu+tLvE/2cUioTMZI+fW3rqbwSpl37EzME/jspCmp2GGzRTKd9BO9ovCs5phMjOUzSXkpMkT8mm4b6+ZZ51bkoFIC5/Uf7bZZI+epkKUqxSHaTG64AB2OG+nmH8gv3gWagvrRiAgcpvrdITrTTTTUyN0zlZje6rTYdhEX9648qOSZ4LYiSIY+DJxtT7rd5iZBpuAnsTmtVgdIb+kyKTReXRSgGorSQeTsdOQaIfDoyoMlzPeRP5rq7J7JpQA289MfpOJtwg==

MARIO ALFONSO MURILLO TOVAR | Fecha:2023-06-09 13:43:46 | Firmante

LAnLP64VgNC3sHOMNbmHAYiofFCLL++FrYjyVJNTbu8zJ6UoFvVcpW8FclYmj7CqSOB4dWQvJQPCts9utfNMK8yG8c+lohGfAnUJTeQUHwwUhc4rN845c+FZrhIkBxv6nTs/Kz/XXtwudGQI0XKV0oB8xvtW3vWeJX1WRKfF0AcRKbHwjj7IzzjimyryYtK8XZfhBFKeasUYt4n5IXGy5sPDQCdq5R9ZoxSK37MSryhTsd5aOWBAiA28QFWNEjUD0FXMaK5cW XVoiXmGL9f3gd/sGkwbF20vUmwZJ47qPCdAlvU/bVvk3cQk0yFNOoB1D0YBt+Hc3Yvg+fn1gJ2mw==

HUGO ALBEIRO SALDARRIAGA NOREÑA | Fecha:2023-06-09 13:53:45 | Firmante

XpYTtb3PTzR0014h3ii2DCH3DZW/GstOCfhF0apVlcGMyhF8uSm+mb3u8FYrEYz7PKSiyk5+rihiONBmBBIUPaFEjTT7wm1GO2x0SLw/Mo+2ICVstjtYuoGHAIfDZJRkft0J4OqKndvzJM5kIve79XcLHngRwL4I+o6j3T2av59EwgrfFNlo4JGVFpEXZOROeytoVAzclhe0w9NS1I8CtfoxGAf3GAsJ+u8Plpcwulh+QKButEt5CtXnL5f2S1Cku1nUmDm1SNxEbBPZQq+bfedFVx8QfKido491d+i4KVoHZ7M9sYtC8HnBCUGoFAj+TsoH79ypFBFPcwtNHA==

CESAR TORRES SEGUNDO | Fecha:2023-06-09 13:58:50 | Firmante

VyNFQIGnz4Q2MjAlc0q3kFq4eY5slraoovEfqnmmVYeJfLIGuylbZp56FJkSXbgnl4LzZM5DjlxoCxAaqWXXMF1UhlFAFqjkwFSsfBjE82t3uoO8nrA9O94xkvPkL/AL3DkBpa7J8fDX27udmPloWJjvSCe36vSAflPqKzOjsLHeOc0RT0a5lQydy7/ftHJmHgVPS02hhVofbrmAlZ947V3DTP+VhAgK/UIZ+OB4yxQQQnAdOalBif/iePrXYj/s8TE1aURu4kabxtOTpbLAgPrw4Qkl87QG3v/HjmUOASUXXepLkic0G1iGtg6IIG5Tk0ufPdPfq6ZA15xhZw==

FERNANDA MORALES GUZMAN | Fecha:2023-06-09 16:31:12 | Firmante

MRFUQfWQJIFXVL/PwNoh96xsY99rigxmi+D9tdNe3RUlx3lGLd3OmOeTUGSPi3GqrEoS8kTggyblqZ3lph+f3nGVUcU87/lw17qhqtEjgg+xpEab9NdBe5+PMcilj8aZnuuqsiWqnVeiKG6+MIRvLEaXBVDLB5vTbMI+NxvOWs4bFRHF/WbouvZezBYBW2LXDv9meGXvVwfAEM0edDV/yGzqlYhrLQQ3ur+kKm8KqNyEAXu1pJMQuYkCrkA0hdgr7SuWzB1x3KSW7f1FJ492y7Xz6ezTYJzYzkRTFYk6WvpqYtG6GJ9njmSV56wsHG4LpHtLxVJmPRnRjL4J5iw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



Bn6DTmzYd

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/xNo0kFj1TrFPag5JHsxtTJclb6igoL0>

