

Monitoramento COVID Esgotos

Detecção e Quantificação do Novo Coronavírus em Amostras de Esgoto nas Cidades de Belo Horizonte e Contagem



MONITORAMENTO
COVID ESGOTOS



República Federativa do Brasil

Jair Bolsonaro
Presidente da República

Ministério do Desenvolvimento Regional

Daniel Ferreira
Ministro

Ministério da Educação

Victor Godoy Veiga
Ministro

Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico

Diretoria Colegiada

Veronica Sánchez da Cruz Rios (Diretora-Presidente)
Vitor Saback
Maurício Abijaodi
Ana Carolina Argolo
Filipe de Mello Sampaio Cunha

Universidade Federal de Minas Gerais

Reitoria

Sandra Regina Goulart Almeida (Reitora)
Alessandro Fernandes Moreira (Vice-Reitor)



Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico
Ministério do Desenvolvimento Regional

Universidade Federal de Minas Gerais
Ministério da Educação

Monitoramento COVID Esgotos



Detecção e Quantificação do Novo Coronavírus em Amostras de Esgoto
nas Cidades de Belo Horizonte e Contagem

Brasília – DF
ANA
2022



© 2022 Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA).

Setor Policial, Área 5, Quadra 3, Edifício Sede, Bloco M
CEP: 70.610-200 – Brasília/DF
Telefone: (61) 2109-5400 / 5252
Endereço eletrônico: <https://www.gov.br/ana/pt-br>.

Comitê de Editoração

Joaquim Guedes Corrêa Gondim Filho (coordenador)
Flávio Hadler Tröger
Humberto Cardoso Gonçalves
Rogério de Abreu Menescal (secretário-executivo)

Equipe Editorial

Supervisão editorial

Alyne Duarte Pereira
Carlos Alberto Perdigão Pessoa
Sérgio Rodrigues Ayrimoraes Soares
Vera Tainá Franco Vidal Mota

Projeto Gráfico

Monumenta Comunicação e Estratégias Sociais e Phábrica de Produções

Editoração, capa e ilustrações

Phábrica de Produções:
Alecsander Coelho, Daniela Bissiguini, Érsio Ribeiro e Paulo Ciola

Fotografias

Companhia de Saneamento de Minas Gerais e
Instituto Mineiro de Gestão das Águas

Produção

Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgotos

As ilustrações, tabelas e gráficos sem indicação de fonte foram elaborados pelo INCT ETEs Sustentáveis. Todos os direitos reservados

É permitida a reprodução de dados e de informações contidos nesta publicação, desde que citada a fonte.

Catálogo na fonte: CEDOC/BIBLIOTECA

A265m Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (Brasil).
Monitoramento COVID esgotos : detecção e quantificação do novo coronavírus em amostras de esgoto nas cidades de Belo Horizonte e Contagem. – Brasília : ANA, 2022.
85 p. : il.
ISBN: 978-65-88101-31-5
1. COVID 19. 2. Coronavírus. 3. Detecção. 4. Esgoto. 5. Monitoramento. I. Título.

Elaborada por Marcelo Santana Costa – CRB-1/1849

Coordenação e Equipe Técnica

Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico

Coordenação

Sérgio Rodrigues Ayrimoraes Soares

Equipe Técnica

Carlos Alberto Perdigão Pessoa; Diana Leite Cavalcanti. Flávio Hadler Tröger, Marcus André Fuckner; Raylton Alves Batista; Thamiris de Oliveira Lima e Thiago Henriques Fontenelle

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgotos

Coordenação Geral

Carlos Chernicharo

Coordenação Executiva

Juliana Calábria de Araújo
Cesar Rossas Mota Filho

Equipe Técnica

Alyne Duarte Pereira; Amanda Teodoro; Andrés Felipe Torres; Ayana Lemos; Bernardo Borges de Lima; Bruna Coelho; Cintia Leal; Camila Madeira; Deborah Leroy; Elayne Machado; Gabriel Tadeu; Gabriela Coelho; Izabel Chiodi; Lariza Azevedo; Lívia Lobato; Lucas Chamhum; Lucas Vassalle; Luyara Fernandes; Maria Fernanda Espinosa; Marcela França Dias; Matheus Pascoal; Rafael Pessoa; Thiago Bressani; Thiago Leão; Thiago Morandi e Vera Tainá Mota

Companhia de Saneamento de Minas Gerais

Supervisão

Marcus Tullius

Equipe Técnica

David Bichara; Jorge Luiz Borges; Gilberto Gomes; Ronaldo de Melo; Sérgio Neves e Solange da Costa

Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais

Supervisão

Filipe Laguardia

Equipe Técnica

Beatriz Carvalho e Dario Ramalho

Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável de Minas Gerais

Supervisão

Marília Melo

Equipe Técnica

Katiane Cristina de Brito Almeida e Valquíria Moreira

Instituto Mineiro de Gestão das Águas

Supervisão

Marcelo da Fonseca



SUMÁRIO

1. Introdução	7
Referências	8
2. Planejamento e metodologia para a detecção e quantificação de SARS-COV-2 no esgoto	10
2.1 Concepção do plano de monitoramento	10
2.2 Definição dos pontos de amostragem de esgoto	10
2.3 Coleta, preservação e transporte das amostras de esgoto	15
2.4 Segurança e proteção individual na coleta e manuseio de amostras de esgoto	16
2.5 Metodologia para detecção e quantificação do SARS-CoV-2	20
2.6 Considerações Finais	23
2.7 Referências	24
3. Evolução temporal da carga viral nos esgotos afluentes às ETEs	26
3.1 Detecção e concentração do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos	26
3.2 Carga viral, casos notificados e confirmados de COVID-19, e medidas adotadas para contenção do vírus SARS-CoV-2	28
3.3 Estimativa da população infectada	31
3.4 Considerações finais	32
3.5 Referências	32
4. Monitoramento regionalizado do SARS-COV-2 no esgoto	34
4.1 Sub-bacias selecionadas para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte	34
4.2 Evolução temporal das concentrações de SARS-CoV-2 nos esgotos das sub-bacias ao longo do tempo	36
4.3 Índice de Prevalência Relativa (IPR)	40
4.4 Considerações finais	42
4.5 Referências	42



5. Contribuições específicas do projeto piloto para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto 44

- 5.1 Quantificação do material genético do novo coronavírus: sensibilidade dos ensaios moleculares e correlação das cargas virais com o número de casos de COVID-19..... 45
- 5.2 Avaliação de amostragens simples e composta para o monitoramento do SARS-CoV-2 em esgotos52
- 5.3 Monitoramento do vírus SARS-CoV-2 em amostras de esgoto de locais com grande circulação de pessoas.....62
- 5.4. Monitoramento do SARS-CoV-2 em águas superficiais urbanas de Belo Horizonte como ferramenta epidemiológica para populações desprovidas de coleta e tratamento de esgotos70

Considerações Finais 84





APRESENTAÇÃO

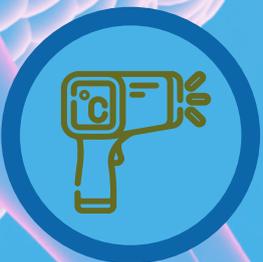
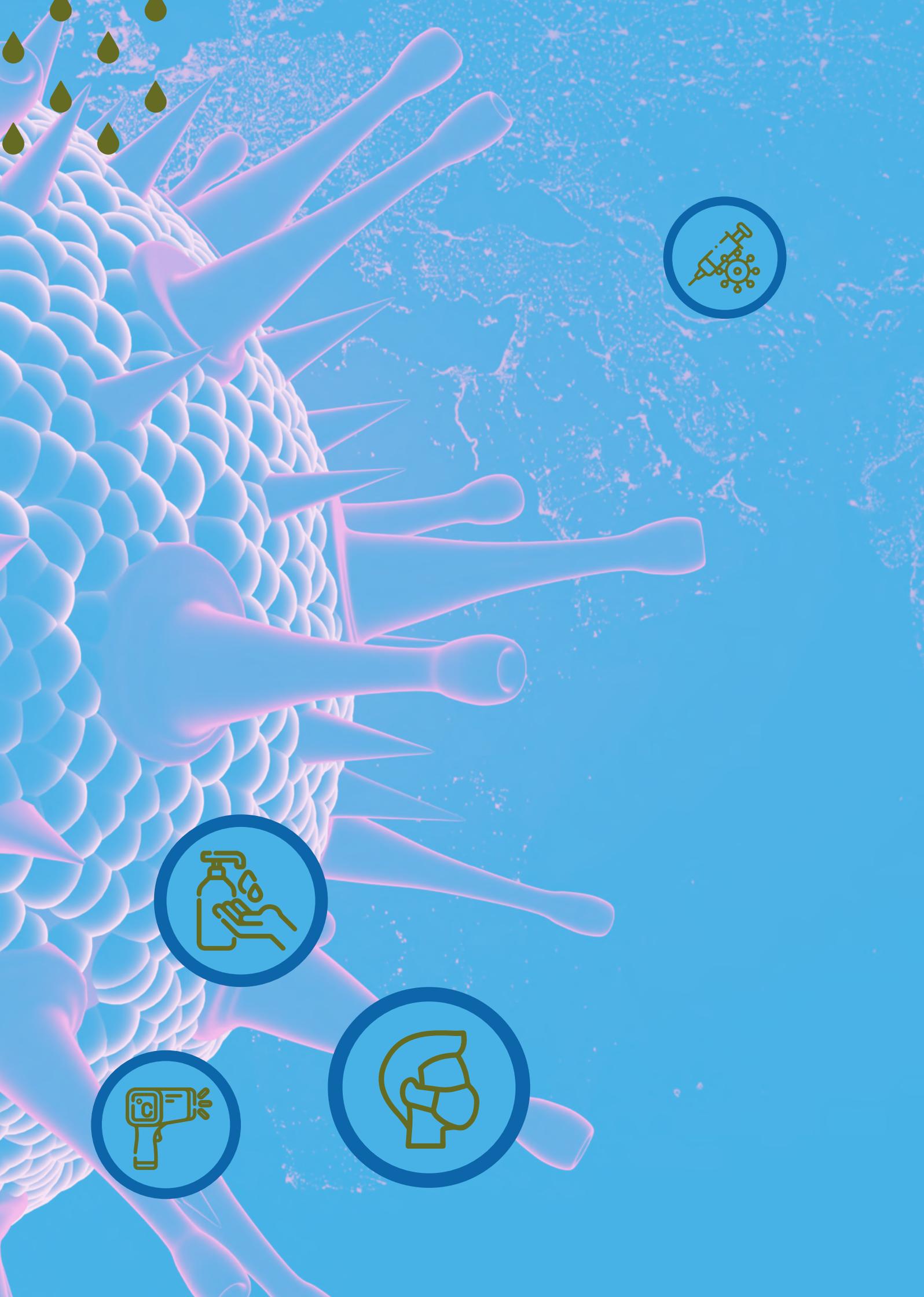
O vírus SARS-CoV-2, causador da doença denominada COVID-19, teve sua origem mais provável no final de 2019, na China. Poucos meses depois já havia sido disseminado em diversos países, o que levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarar a pandemia da COVID-19 no início de março de 2020, mesma época em que foram notificados os primeiros casos da doença no Brasil. Apesar dos esforços globais para contenção da disseminação do novo coronavírus, por meio de duras medidas globais de distanciamento social e restrições de diversas atividades, até o momento presente (julho de 2022) somam-se mais de 550 milhões de casos e 6,3 milhões de mortes em todo o mundo. De forma complementar à testagem em massa da população, a epidemiologia baseada nos esgotos, WBE (do inglês *Wastewater-Based Epidemiology*), surgiu como uma ferramenta de vigilância epidemiológica auxiliar, possibilitando inferir sobre a disseminação da COVID-19 a partir das análises do material genético do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos domésticos.

Com inspiração em experiências reportadas em diversas cidades de todo o mundo, em conformidade com a necessidade de somar esforços para o controle epidemiológico do vírus SARS-CoV-2, a Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) e o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgotos (INCT ETEs Sustentáveis), a partir de seu núcleo sediado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), desenvolveram o Projeto Piloto Monitoramento COVID Esgotos: Detecção e Quantificação do Novo Coronavírus em Amostras de Esgotos nas Cidades de Belo Horizonte e Contagem. Entre abril de 2020 e maio de 2021, foi realizado o monitoramento da presença do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos sanitários das cidades de Belo Horizonte e Contagem, Minas Gerais. Com isso, buscou-se mapear a disseminação do vírus nas cidades, relacionando as cargas e concentrações virais presentes nos esgotos aos casos suspeitos e confirmados de COVID-19 pelo sistema de saúde, e avançar na compreensão do monitoramento do SARS-CoV-2 nos esgotos como ferramenta auxiliar para a verificação da situação epidemiológica nas cidades

visando apoiar, de forma preventiva, a tomada de decisão. O projeto contou com a parceria da Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA) no planejamento e execução das amostragens de esgoto, do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) na concepção do projeto e articulação institucional, e da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES) como órgão apoiador para as questões relacionadas aos dados de saúde, interlocução com hospitais e transporte de amostras.

Na presente publicação são apresentados os resultados (i) da evolução temporal da presença do material genético do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos na entrada das duas principais ETEs da cidade de Belo Horizonte, (ii) da análise regionalizada por sub-bacias relacionando-se com os níveis de vulnerabilidade da população, bem como (iii) de investigações de temas específicos, abordando aspectos metodológicos (alvo proteico das análises do material genético - N1 e N2 e tipos de amostragem) e outras potencialidades do monitoramento do vírus no ambiente (análises dos esgotos de estabelecimentos públicos de grande circulação de pessoas e monitoramento do vírus em águas superficiais). Assim, este documento contém a síntese dos resultados do projeto piloto, que foram publicados previamente na forma de boletins de acompanhamento em sua maioria semanais, boletins temáticos, notas técnicas e artigos científicos.

Devido à projeção dos resultados obtidos neste projeto, seu escopo foi ampliado, dando origem à Rede Monitoramento Covid Esgotos, com o objetivo de ampliar o monitoramento da ocorrência do SARS-CoV-2 no esgoto gerado em outras regiões do Brasil, de modo a contemplar diferentes realidades regionais. Sob a coordenação da ANA e do INCT ETEs Sustentáveis sediado na UFMG, e com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Rede Monitoramento COVID Esgotos passou a ser integrada por instituições localizadas nos estados de Minas Gerais, Ceará, Pernambuco, Rio de Janeiro, Paraná e Distrito Federal. Assim, o projeto piloto consolidou-se como uma referência nacional e os impactos gerados extrapolam os resultados apresentados no presente documento.



1

Introdução

O vírus SARS-CoV-2, também conhecido por novo coronavírus, foi detectado pela primeira vez na cidade de Wuhan, na China, a partir de análise laboratorial de pacientes com sintomas de doença respiratória grave (Huang *et al.*, 2020). Membro da família *Coronaviridae*, é um vírus envelopado composto por uma fita de RNA. Causador da doença chamada COVID-19 e de alta transmissibilidade por via aérea, rapidamente se alastrou por diversos países, incluindo o Brasil. Em 11 de março de 2020 a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a pandemia da COVID-19, que afetou países com os mais diversos níveis de desenvolvimento. Pesquisas se intensificaram para melhor compreender o vírus e assim desenvolver estratégias de combate à COVID-19. Várias vêm sendo as frentes de atuação e investigação, tais como: desenvolvimento de vacinas, investigação da genética do vírus, estudo da sintomatologia e evolução clínica da doença, desenvolvimento e reposição de fármacos, produção de testes clínicos, uso de ferramentas de vigilância epidemiológica e monitoramento ambiental.

Inicialmente reportada a via de transmissão do SARS-CoV-2 pelo ar e gotículas (Yao *et al.*, 2020), surgiu a preocupação por outras vias de transmissão, como contato com superfícies, comida, insetos e esgotos (Eslami e Jalili, 2020; Xiao *et al.*, 2020). Baseando-se em evidências da presença de outros coronavírus nas fezes, como o SARS-CoV (causador da síndrome respiratória aguda e severa) e o MERS-CoV (causador da síndrome respiratória do oriente médio), verificou-se que o SARS-CoV-2 infecta o intestino, estando o RNA do vírus presente nas fezes dos infectados (Wu *et al.*, 2020). Em cerca de 50% dos pacientes investigados no estudo, a detecção do novo coronavírus nas fezes aconteceu por cerca de 11 dias após as amostras do trato respiratório dos

pacientes terem sido negativas, indicando a replicação ativa do vírus no trato gastrointestinal. Também se verificou que a urina pode contribuir com a carga de vírus nos esgotos, bem como fluidos respiratórios e saliva, mas em quantidades bem inferiores às fezes (Crank *et al.*, 2021). Entretanto, apesar da detecção de concentrações relativamente elevadas do seu material genético, a replicação e infectividade do vírus proveniente das fezes e esgotos é limitada (Wolfel *et al.*, 2020; Elsamadony *et al.*, 2020; Rimoldi *et al.*, 2020), e os riscos de infecção por veiculação hídrica parecem ser baixos (Rimoldi *et al.*, 2020).

Todavia, o monitoramento do material genético de agentes infecciosos nos esgotos constitui-se como uma ferramenta de vigilância epidemiológica. O monitoramento epidemiológico baseado nos esgotos, WBE (*Wastewater-Based Epidemiology*), é conhecido desde a década de 1940. Foi utilizado inicialmente no enfrentamento da epidemia de poliomielite, nos Estados Unidos, mas ainda hoje é usado amplamente em várias partes do mundo, incluindo o Brasil, para detectar a recorrência do poliovírus (causador da poliomielite). Embora seja uma ferramenta conhecida há várias décadas, voltou a

O monitoramento do material genético do SARS-CoV-2 nos esgotos tem o potencial de alertar precocemente a ocorrência de surtos e auxiliar no rastreamento da disseminação do vírus.

ficar em evidência desde março de 2020, quando o vírus SARS-CoV-2 foi detectado em amostras de esgoto na Holanda (Medema *et al.*, 2020). Desde então, diversos outros estudos contemplando análises do material genético do vírus nos esgotos foram publicados (Ahmed *et al.*, 2020; Betancourt *et al.*, 2021; Hong *et al.*, 2021; Mota *et al.*, 2021; Prado *et al.*, 2021; Scott *et al.*, 2021). O monitoramento do material genético do SARS-CoV-2 nos esgotos tem o potencial de alertar precocemente a ocorrência de surtos e auxiliar no rastreamento da disseminação do vírus, podendo-se estimar indiretamente a população infectada pelo vírus. Ainda que esta seja uma estimativa qualitativa e imprecisa quantitativamente, é relevante para vigilância epidemiológica tendo em vista que a testagem clínica em massa é dispendiosa e limitada pelos custos e insumos requeridos. Quando combinados com os dados de casos notificados e suspeitos de COVID-19, os dados de monitoramento do vírus nos esgotos também podem auxiliar no estabelecimento de diretrizes para o enfrentamento da doença na comunidade em estudo.

No Projeto Piloto Monitoramento COVID Esgotos: Detecção e Quantificação do Novo Coronavírus em Amostras de Esgotos nas Cidades de Belo Horizonte e Contagem, esgotos das referidas cidades foram monitorados quanto à presença do RNA do SARS-CoV-2 entre abril de 2020 e final de maio de 2021. Considerando-se que no Brasil mais de 50% dos esgotos não são encaminhados a ETEs (Brasil, 2020), para que os dados de monitoramento sejam representativos, as coletas devem ser feitas de forma regionalizada. Assim, além dos esgotos afluentes às duas principais ETEs da cidade de Belo Horizonte, que atendem juntas a mais de 2 milhões de habitantes, foram monitorados os esgotos de pontos das redes coletoras e dos interceptores do sistema de esgotamento sanitário das sub-bacias sanitárias das cidades, e esgotos de locais públicos considerados estratégicos.

Quando combinados com os dados de casos notificados e suspeitos de COVID-19, os dados de monitoramento do vírus nos esgotos também podem auxiliar no estabelecimento de diretrizes para o enfrentamento da doença na comunidade em estudo.

Referências

- AHMED, W.; BERTSCH, P.; ANGEL, N.; BIBBY, K.; BIVINS, A.; DIERENS, L.; EDSON, J.; EHRET, J.; GYAWALI, P.; HAMILTON, K.; HOSEGOOD, I.; HUGENHOLTZ, P.; JIANG, G.; KITAJIMA, M.; SICHANI, H.; SHI, J.; SHIMKO, K.; SIMPSON, S.; SMITH, W.; SYMONDS, E.; THOMAS, K.; VERHAGEN, R.; ZAUGG, J.; MUELLER, J. Detection of SARS-CoV-2 RNA in commercial passenger aircraft and cruise ship wastewater: a surveillance tool for assessing the presence of COVID-19 infected travellers. **Journal of Travel Medicine**, 27(5), 2020. <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa116>.
- BETANCOURT, W. Q.; SCHMITZ, B. W.; INNES, G. K.; PRASEK, S. M.; BROWN, K. M. P.; STARK, E. R.; FOSTER, A. R.; SPRISSELER, R. S.; HARRIS, D. T.; SHERCHAN, S. P.; GERBA, C. P.; PEPPER, I. L. COVID-19 containment on a college campus via wastewater-based epidemiology, targeted clinical testing and an intervention. **Science of The Total Environment**, v. 779, 146408. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146408>.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: 25º Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2019. Brasília: SNS/MDR, 2020. 183 p.: il.
- CRANK, K.; CHEN, W.; BIVINS, A.; LOWRY, S.; BIBBY, K. Contribution of SARS-CoV-2 RNA shedding routes to RNA loads in wastewater. **Science of the Total Environment**, 150376, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150376>.
- ELSAMADONY, M.; FUJII, M.; MIURA, T.; WATANABE, T. Possible transmission of viruses from contaminated human feces and sewage: Implications for SARS-CoV-2. **Science of the Total Environment**, 755, 142575, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142575>.
- ESLAMI, H.; JALILI, M. The role of environmental factors to transmission of SARS-CoV-2 (COVID-19). **AMB Express**, 10(1), 92, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01028-0>.
- HART, O. E.; HALDEN, R. U. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. **Science of The Total Environment**, v. 730, 138875. 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138875.
- HONG, P. Y.; RACHMADI, A. T.; MANTILLA-CALDERON, D.; ALKAHTANI, M.; BASHAWRI, Y. M.; QARNI, H. A.; O'REILLY, K. M.; ZHOU, J. Estimating the minimum number of SARS-CoV-2 infected cases needed to detect viral RNA in wastewater: To what extent of the outbreak can surveillance of wastewater tell us? **Environmental Research**, v. 195, 110748, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110748>.
- HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; ZHAO, J.; HU, Y.; ZHANG, L.; FAN, G.; XU, J.; GU, X.; CHENG, Z.; YU, T.; XIA, J.; WEI, Y.; WU, W.; XIE, X.; YIN, W.; LI, H.; LIU, M.; XIAO, Y.; GAO, H.; GUO, L.; XIE, J.; WANG, G.; JIANG, R.; GAO, Z.; JIN, Q.; WANG, J.; CAO, B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395(10223), 497-506, 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).
- MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R.; BROUWER, A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. **Environmental Science & Technology Letters**, acs.estlett.0c00357, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>.
- MOTA, C. R.; BRESSANI-RIBEIRO, T.; ARAÚJO, J. C.; LEAL, C. D.; LEROY-FREITAS, D.; MACHADO, E. C.; ESPINOSA, M. F.; FERNANDES, L.; LEÃO, T. L.; CHAMHUM-SILVA, L.; AZEVEDO, L.; MORANDI, T.; FREITAS, G. T. O.; COSTA, M. S.; CARVALHO, B. O.; REIS, M. T. P.; MELO, M. C.; AYRIMORAES S. R.; CHERNICHARO, C. A. L. Assessing spatial distribution of COVID-19 prevalence in Brazil using decentralised sewage monitoring. **Water Research**, v.



202, 117388. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117388>.

PRADO, T.; FUMIAN, T. M.; MANNARINO, C. F.; RESENDE, P. C.; MOTTA, F. C.; EPPINGHAUS, A. L. F.; VALE, V. H. C.; BRAZ, R. M. S.; ANDRADE, J. S. R.; MARANHÃO, A. G.; MIAGOSTOVICH, M. P. Wastewater-based epidemiology as a useful tool to track SARS-CoV-2 and support public health policies at municipal level in Brazil. **Water Research**, v. 191, 116810. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116810>.

RIMOLDI, S. G.; STEFANI, F.; GIGANTIello, A.; POLESSELLO, S.; COMANDATORE, F.; MILETO, D.; MARESCA, M.; LONGOBARDI, C.; MANCON, A.; ROMERI, F.; PAGANI, C.; CAPPELLI, F.; ROSCIOLI, C.; MOJA, L.; GISMONDO, M. R.; SALERNO, F. Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. **Science of the Total Environment**, 744, 140911, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140911>.

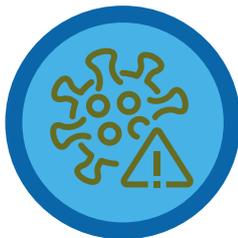
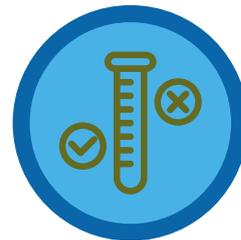
SCOTT, L. C.; AUBEE, A.; BABAHAJI, L.; VIGIL, K.; TIMS, S.; AW, T. G. Targeted wastewater surveillance of SARS-CoV-2 on a university campus for COVID-19 outbreak detection and mitigation. **Environmental Research**, v. 200, 111374. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111374>.

WÖLFEL, R.; CORMAN, V. M.; GUGGEMOS, W.; SEILMAIER, M.; ZANGE, S.; MÜLLER, M. A.; NIEMEYER, D.; JONES, T. C.; VOLLMAR, P.; ROTHE, C.; HOELSCHER, M.; BLEICKER, T.; BRÜNINK, S.; SCHNEIDER, J.; EHMANN, R.; ZWIRGLMAIER, K.; DROSTEN, C.; WENDTNER, C. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. **Nature**, 581(7809), 465–469, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>

WU, Y.; GUO, C.; TANG, L.; HONG, Z.; ZHOU, J.; DONG, X.; YIN, H.; XIAO, Q.; TANG, Y.; QU, X.; KUANG, L.; FANG, X.; MISHRA, N.; LU, J.; SHAN, H.; JIANG, G.; HUANG, X. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, 5(5), 434–435, 2020. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2).

XIAO, F.; TANG, M.; ZHENG, X.; LIU, Y.; LI, X.; SHAN, H. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. **Gastroenterology**, 158(6), 1831–1833.e3, 2020. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>.

YAO, M.; ZHANG, L.; MA, J.; ZHOU, L. On airborne transmission and control of SARS-CoV-2. **Science of The Total Environment**, v. 731, 139178, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139178>.



2

Planejamento e metodologia para a detecção e quantificação de SARS-CoV-2 no esgoto

A concepção do plano de monitoramento do SARS-CoV-2 no âmbito do Projeto Piloto considerou não apenas a coleta de amostras de esgoto na entrada e na saída das ETEs, mas avançou no sentido de monitorar o esgoto de forma regionalizada, em pontos representativos de diferentes estratos sociais da população, e também de alguns *hot spots*, a exemplo dos hospitais de referência para tratamento da COVID-19. Essa estratégia foi adotada, levando em consideração que, para países como o Brasil, o monitoramento do esgoto apenas nas ETEs não é suficiente para identificar a magnitude da circulação do vírus na cidade como um todo. Ademais, é essencial monitorar o esgoto gerado pela parcela da população que vive em áreas mais vulneráveis, cujos esgotos, em sua quase totalidade, não chegam às ETEs, seja em decorrência da ausência de redes coletoras, ou da falta de interligação das redes coletoras às ETEs.

2.1 Concepção do plano de monitoramento

Para a concepção de um plano de amostragem e mapeamento da ocorrência do SARS-CoV-2 no esgoto, além de assegurar a distribuição regionalizada e representativa dos pontos de monitoramento, é importante considerar alguns elementos como a disponibilidade de infraestrutura laboratorial e a disponibilidade do mapa da malha urbana da cidade.

A disponibilidade de laboratório especializado e pessoal técnico qualificado para a realização das análises e a disponibilidade de infraestrutura laboratorial adequada para as análises são aspectos importantes no planejamento do monitoramento. Deve ser ainda avaliada a capacidade de processamento (ex. número de análises por semana) e, obviamente, a disponibilidade de recursos financeiros para a aquisição dos insumos necessários à realização das análises. A partir da capacidade de processamento da infraestrutura laboratorial e dos recursos financeiros disponíveis, tem-se a primeira informação essencial para a elab-

oração do plano de monitoramento, que é o número máximo de pontos de amostragem que constará do plano, que também é dependente da logística da coleta em campo, como será discutido adiante.

Outro aspecto importante para o planejamento é a disponibilidade do mapa da malha urbana da cidade atendida pelo sistema de esgotamento sanitário, que deverá conter os seguintes elementos principais:

- a) traçado da rede coletora e dos interceptores (secundários e principais), a ser obtido com a concessionária de esgotamento sanitário local.
- b) delimitação das sub-bacias de esgotamento sanitário, relacionadas a cada um dos interceptores secundários do sistema de esgotamento existente.
- c) informações sobre os diferentes índices de vulnerabilidade por área da malha urbana (social, socioeconômica, da saúde), a ser obtido com o poder público local.
- d) localização de hospitais de referência para tratamento da COVID-19 (públicos e particulares) e postos de saúde; locais de grande circulação de pessoas (ex. escolas, shopping centers, rodoviárias, aeroportos).

Caso nem todas as informações mencionadas acima estejam disponíveis, minimamente o traçado e a área de esgotamento dos interceptores secundários (área de contribuição para as sub-bacias de esgotamento sanitário) deverão ser disponibilizados. A partir da área de esgotamento de cada interceptor poderá ser estimada a população contribuinte, assim como a vazão de esgoto no ponto escolhido para o monitoramento. Esses parâmetros são importantes para estimar as cargas de SARS-CoV-2 no esgoto.

2.2 Definição dos pontos de amostragem de esgoto

O plano de monitoramento deve refletir o objetivo que se pretende atingir com o estudo, que pode ser:

- i) identificação de tendências/ alterações de ocorrência do vírus ao longo da curva epidêmica, nas diferentes regiões estudadas.
- ii) alerta precoce do início (ou incremento súbito) da circulação do vírus em locais de maior concentração de pessoas.

Enquanto o primeiro objetivo busca fornecer informações para o entendimento da prevalência e da dinâmica de circulação do vírus nas diferentes regiões estudadas (áreas representativas de diferentes estratos sociais e índices de vulnerabilidade), o segundo objetivo busca fornecer informações que subsidiem alertas precoces da presença do vírus, contribuindo para melhorar a resposta face a eventuais novos surtos da doença. Nesse sentido, o plano de monitoramento pode ser concebido para atender a apenas um ou aos dois objetivos, a depender da evolução do número de casos suspeitos/confirmados e da realidade de cada local.

2.2.1 Definição dos pontos de amostragem considerando o primeiro objetivo: identificar tendências da ocorrência do vírus nas regiões monitoradas ao longo do tempo

Nesse caso, a escolha dos pontos de amostragem de esgoto deve ser representativa dos diferentes estratos de classes sociais e índices de vulnerabilidade da população cujos esgotos são coletados e direcionados para o sistema de esgotamento sanitário. Deve-se buscar a maior homogeneidade possível dentro de uma mesma área (sub-bacia de contribuição) e, sempre que possível, a seleção de áreas que sejam representativas do conjunto da malha urbana amostrada. Cabe ressaltar que a escolha dos pontos de amostragem é influenciada pelo arranjo espacial do sistema de coleta e interceptação de esgoto, conforme exemplificado no Quadro 2.1.

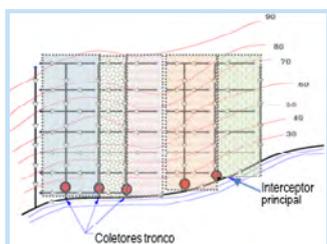
A conveniência de inclusão de pontos de coleta de amostras de esgoto representativas de hospitais e locais de elevada circulação de pessoas deve ser avaliada a fim de se ter mais elementos para a interpretação dos resultados obtidos a partir do monitoramento da malha urbana atendida pelo sistema de esgotamento sanitário objeto do estudo.

No Projeto Piloto Monitoramento Covid Esgotos, o plano de monitoramento abrangeu os sistemas de esgotamento sanitário inseridos nas bacias hidrográficas dos ribeirões Arrudas e Onça, os quais envolvem todas as regionais de Belo Horizonte e parte importante do município de Contagem. Foram definidos 24 pontos de monitoramento do esgoto, sendo 12 em cada um dos sistemas de esgotamento sanitário.

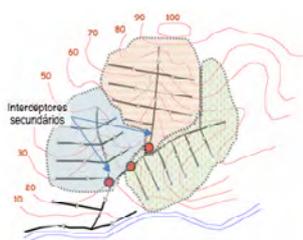
Inicialmente, do total de pontos monitorados, 22 eram representativos do esgoto gerado pela população e pelos hospitais de referência para o tratamento da COVID-19 nestes dois sistemas de esgotamento. Os outros 2 pontos representavam os efluentes das principais estações de tratamento de esgoto de cada sistema (Figura 2.1a, Tabela 2.1). A partir de semana epidemiológica 31 de 2020 (de 26/07/2020 a 01/08/2020), o ponto de amostragem do hospital UNIMED (SBA-08) foi desativado e deslocado para a divisa dos municípios de Contagem e Belo Horizonte na Bacia do Arrudas, permitindo assim o monitoramento individualizado das contribuições de esgoto oriundas de Contagem. As contribuições de Contagem eram anteriormente computadas conjuntamente na sub-bacia SBA-04 (Interceptor Ribeirão Arrudas – margem esquerda). O novo ponto adicionado foi identificado como SBA-C (Interceptor Córrego Água Branca) e era representativo de parte de Contagem. O ponto da sub-bacia SBA-04 foi mantido, sendo representativo de Belo Horizonte e Contagem (Figura 2.1b; Tabela 2.1). De maneira análoga, a partir da semana epidemiológica 31 de 2020, o ponto de amostragem do hospital Risoleta Neves (SBO-06) foi substituído por um ponto de monitoramento na divisa entre os municípios de Contagem e Belo Horizonte, na Bacia do Onça. Essa substituição possibilitou o monitoramento individualizado de outra parcela do esgoto advindo de Contagem, anteriormente contabilizado conjuntamente na sub-bacia SBO-01 (Interceptores Córregos Sarandi e Ressaca). O novo ponto de amostragem foi identificado como SBO-C (Interceptor Córrego Sarandi) e era representativo de Contagem. A sub-bacia SBO-01 passou a ser representativa apenas de Belo Horizonte (Interceptor Córrego Ressaca).

Na Figura 2.1 (a e b) é apresentada a distribuição dos pontos de amostragem que integraram o plano de monitoramento dos dois sistemas de esgotamento sanitário (Arrudas e Onça) ao longo do Projeto Piloto. Na Tabela 2.1 são apresentadas a identificação e uma breve descrição das áreas de contribuição para as sub-bacias de esgotamento sanitário.

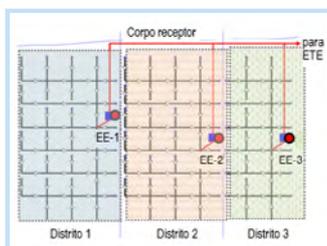
Quadro 2.1 – Tipos de traçado de redes coletoras e interceptores



Traçado perpendicular: é típico de malhas urbanas que se desenvolvem ao longo de um curso d'água principal, o que usualmente resulta na necessidade de coletores tronco com traçado perpendicular ao interceptor. Para esse tipo de traçado, a escolha mais lógica dos pontos de amostragem é coincidente com o último poço de visita do coletor tronco, antes do lançamento no interceptor principal.



Traçado em leque: configuração predominante em cidades com terrenos acidentados, nas quais existem diversas sub-bacias de drenagem com coletores tronco ou interceptores nos fundos dos vales. Nesse caso, os pontos de amostragem são usualmente os poços de visita localizados mais a jusante dos coletores tronco ou interceptores secundários de cada uma das sub-bacias que representam as áreas a serem amostradas.



Traçado distrital ou radial: é comum em cidades planas (ex. cidades litorâneas), nas quais a malha urbana é dividida em setores independentes e que usualmente fazem uso de elevatórias de esgoto ou de sistemas descentralizados de tratamento de esgoto. Esse tipo de traçado é, possivelmente, o que resulta no plano de monitoramento mais simples e econômico, uma vez que os pontos de amostragem podem ser coincidentes com as estações elevatórias de esgoto ou ETEs descentralizadas, o que facilita a coleta das amostras.

Fonte: Adaptado de Tsutiya e Alem Sobrinho, 1999

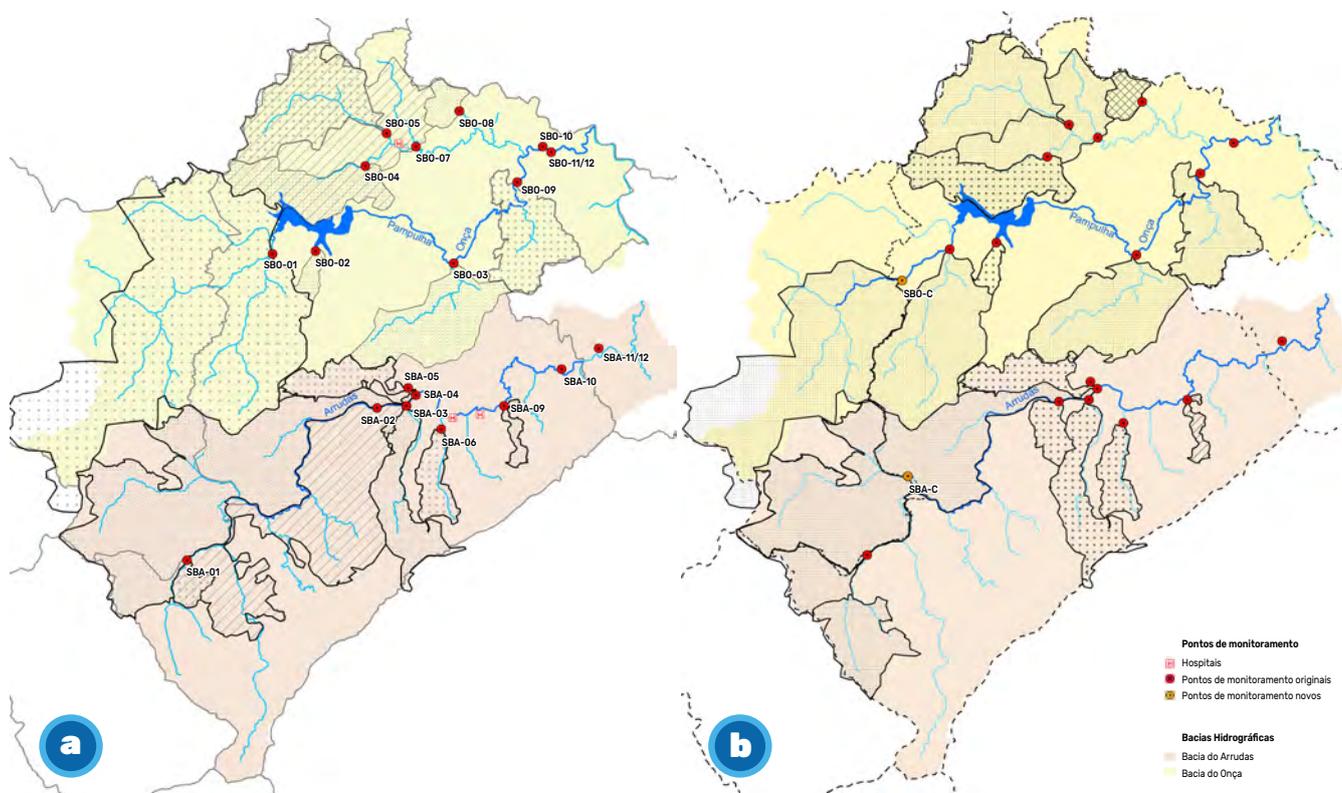


Figura 2.1 – Plano de monitoramento elaborado para o Projeto Piloto Monitoramento COVID Esgotos nas cidades de Belo Horizonte e Contagem, em Minas Gerais. (a) Do início do monitoramento até a semana epidemiológica 31 de 2020 e (b) a partir da semana epidemiológica 31 de 2020.

Tabela 2.1 - Identificação e breve descrição das regiões e sub-bacias de esgotamento sanitário para o Projeto Piloto Monitoramento COVID Esgotos nas cidades de Belo Horizonte e Contagem, em Minas Gerais

SUB-BACIA	IDENTIFICAÇÃO	DESCRIÇÃO	PRINCIPAIS BAIRROS/HOSPITAIS DE REFERÊNCIA
SBA-01	Córrego Jatobá	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Lindéia, Regina, Tirol, Jatobá
SBA-02	Córrego Pintos	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Grajaú, Salgado Filho, Gutierrez, Nova Suíssa, Estrela Dalva, Bunitis
SBA-03	Córrego Leitão	Área reduzida, de baixa vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Belvedere, São Bento, Santa Lúcia, Luxemburgo, Santo Antonio, Cidade Jardim, Lourdes, parte área central
SBA-04	Rib. Arrudas (margem esquerda)	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Carlos Prates, Minas Brasil, Padre Eustáquio, Coração Eucarístico, João Pinheiro, Gameleira
SBA-05	Córrego Pastinho	Área reduzida, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Jardim Montanhês, Alto dos Caiçaras, Caiçara-Adelaide, Monsenhor Messias, Pedro II, Santo André, Carlos Prates, Bonfim
SBA-06	Córrego Acaba Mundo	Área reduzida, de baixa vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Sion, Santo Antônio, Savassi, Funcionários
SBA-07	HC	Caracterização de efluente hospitalar	Hospital das Clínicas
SBA-08	HU	Caracterização de efluente hospitalar	Hospital da Unimed
SBA-09	Córrego Cardoso	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Vila Cafezal, Paraíso, Santa Efigênia
SBA-10	Calha Arrudas	Ponto na calha do Ribeirão Arrudas, caracterização do curso d'água	Bairros sem interceptação de esgoto
SBA-11	Entrada ETE Arrudas	Entrada da ETE	Todos os bairros com coleta e interceptação de esgoto
SBA-12	Saída ETE Arrudas	Saída da ETE	
SBA-C	Córrego Água Branca	Ponto representativo da cidade de Contagem na Bacia do ribeirão Arrudas	Jardim Industrial, Industrial, Santa Maria, Jardim Riacho das Pedras, Riacho das Pedras, Inconfidentes
SBO-01	Córregos Ressaca/Sarandi	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Nova Pampulha, Xangrilá, Braunas, Dom Bosco, Sarandi, Serrano, Alípio de Melo, Santa Terezinha, Paquetá
SBO-02	Córregos Mergulhão/Tijuco	Área reduzida, de baixa vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Ouro Preto, Bandeirantes, Paquetá
SBO-03	Córrego Cachoeirinha	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Dom Joaquim, Fernão Dias, União, São Paulo, Sagrada Família, Cidade Nova, Santa Cruz, São João Batista, Palmares, Nova Floresta, Renascença, São Cristóvão, Nova Esperança, Aparecida, Ermelinda, Nova Cachoeirinha, Cachoeirinha, Ipiranga,
SBO-04	Córrego Santa Amélia	Área reduzida, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Itapoã, Jardim Atlântico, Leblon, Copacabana, Santa Amélia, Santa Branca
SBO-05	Córrego Vilarinho (montante HRN)	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Nova América, Jardim dos Comerciantes, Europa, Minas Caixa, Venda Nova, Rio Branco, São João Batista, Piratininga
SBO-06	HRN	Caracterização de efluente hospitalar	Hospital Risoleta Neves
SBO-07	Córrego Vilarinho (jusante HRN) / Isidoro	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Nova América, Jardim dos Comerciantes, Europa, Minas Caixa, Venda Nova, Rio Branco, São João Batista, Piratininga, Juliana, Vila Clóris, Hospital Risoleta Neves

SUB-BACIA	IDENTIFICAÇÃO	DESCRIÇÃO	PRINCIPAIS BAIROS/HOSPITAIS DE REFERÊNCIA
SBO-08	Córrego Terra Vermelha	Área reduzida, de vulnerabilidade da saúde muito elevada e com baixa influência de hospitais	Zilah Spósito, Frei Leopoldo, Etelvina Carneiro, Jaqueline
SBO-09	Córrego Gorduras	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	São Marcos, Goiânia, Maria Goretti, Dom Silvério, Lajedo
SBO-10	Calha Onça	Ponto na calha do Ribeirão Onça, caracterização do curso d'água	Bairros sem interceptação de esgoto
SBO-11	Entrada ETE Onça	Entrada da ETE	Todos os bairros com coleta e interceptação de esgoto
SBO-12	Saída ETE Onça	Saída da ETE	
SBO-C	Córrego Sarandi	Ponto representativo da cidade de Contagem na Bacia do ribeirão Arrudas	Kennedy, Jardim Laguna, Oitis, Parque São João, Funcionários, Bela Vista

SBA = Sub-bacia de esgotamento sanitário do ribeirão Arrudas; SBO = Sub-bacia de esgotamento sanitário do ribeirão do Onça; HC = Hospital das Clínicas; HU = Hospital da Unimed; HRN = Hospital Risoleta Neves

*Índice de Vulnerabilidade de Saúde consultado no portal BHmap (PBH, 2018). Tal índice é obtido a partir da ponderação de indicadores socioeconômicos (moradores por domicílio, analfabetismo, renda, cor e etnia) e aqueles relacionados a saneamento (acesso a soluções adequadas de abastecimento de água, esgotamento sanitário e destinação final de resíduos).

2.2.2 Definição dos pontos de amostragem considerando o segundo objetivo: alerta precoce da circulação do vírus em locais de grande circulação de pessoas

Quando o objetivo principal do plano de monitoramento é fornecer informações que possam subsidiar alertas precoces da presença do vírus, para identificar eventuais novos surtos da doença, além das próprias estações de tratamento e grandes elevatórias de esgoto, pode-se incluir pontos de amostragem que sejam frequentados por um elevado número de pessoas em trânsito. Estudo realizado neste Projeto Piloto, que monitorou a presença do SARS-CoV-2 no esgoto de locais com grande circulação de pessoas na região metropolitana de Belo Horizonte (aeroporto internacional, terminal rodoviário, dois shopping centers e um centro universitário) apontaram que a maioria dos locais apresentou, em seu esgoto, concentração do material genético viral bem menor do que nos esgotos afluentes às duas principais ETEs desta cidade. O monitoramento do esgoto do aeroporto mostrou maior potencial de ser usado como ferramenta complementar de vigilância epidemiológica, apresentando maior frequência de positividade das amostras para o SARS-CoV-2. Tendo em vista a elevada circulação de pessoas procedentes de diversas localidades, bem como a importância do aeroporto como local de conexão entre as diferentes regiões do país, esse monitoramento pode contribuir como ferramenta de vigilância da situação epidemiológica regional e, possivelmente, pode contribuir para informar sobre a situação a nível nacional. Maiores detalhes do estudo sobre a detecção do SARS-CoV-2 em

locais com grande circulação de pessoas podem ser obtidos no Capítulo 5 – Contribuições específicas do Projeto Piloto para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto.

Cabe ressaltar que o monitoramento de locais estratégicos, como nos setores de energia e mineração, os quais possuem parques industriais/ unidades fabris e centros administrativos que agregam elevado contingente de funcionários, pode também fornecer alertas e promover a proteção social das comunidades do entorno em que estes estabelecimentos estão inseridos. O monitoramento de campi universitários, penitenciárias e lares de idosos também podem se constituir em importante ferramenta de vigilância epidemiológica, promovendo alertas precoces da ocorrência de surtos e contribuindo para a proteção destas comunidades (Haris-Lovett *et al.*, 2021; Davó *et al.*, 2021).

Além dos locais estratégicos mencionados, o monitoramento de regiões específicas, como as de maior vulnerabilidade, escolhidas de modo a atender o primeiro objetivo específico apresentado, pode também fornecer alerta precoce da circulação do vírus, possibilitando a antecipação de ações que visem a proteção da população que vive nessas regiões.

2.2.3 Definição das equipes de campo para coleta de amostras

O monitoramento do SARS-CoV-2 em países desenvolvidos normalmente se limita à coleta de amostras na entrada e na saída das ETEs, atividade que já é realizada rotineiramente pela equipe operacional local. Em países como o Brasil, propõe-se um modelo

de monitoramento regionalizado, além do monitoramento centralizado em ETEs. Quando se amplia o monitoramento para o sistema de coleta e interceptação de esgoto, existe a necessidade de se avaliar, criteriosamente, as questões de logística, de disponibilidade de equipes de campo e de acessibilidade aos pontos de amostragem pré-definidos na etapa anterior. A possibilidade de uso de amostradores automáticos é muito vantajosa, pois estes equipamentos reduzem sobremaneira o trabalho e conferem segurança para os operadores, além de propiciarem coleta de amostras em intervalos de tempo pré-determinados e melhor controle sobre a composição das amostras. Por todos esses aspectos, a participação ativa da concessionária local de esgotamento sanitário na definição dos pontos de amostragem e a disponibilização de suas equipes, com domínio de operações de campo, é imprescindível para o planejamento e execução da etapa de coleta das amostras.

2.2.4 Locação dos pontos de amostragem em campo

Durante a escolha dos pontos de amostragem, alguns aspectos relevantes devem ser observados:

- **Localização do(s) local(is) de análise das amostras e dos pontos de apoio**, que podem servir como locais de armazenamento e preparação dos materiais necessários para as coletas.
- **Posicionamento do ponto de amostragem em relação à via pública**. Vias com tráfego intenso de veículos devem ser evitadas.
- **Profundidade do coletor ou interceptor**. Profundidades elevadas (acima de 5 metros) podem dificultar sobremaneira a coleta, notadamente quando esta é feita de forma manual.

2.3 Coleta, preservação e transporte das amostras de esgoto.

Após a definição dos pontos de amostragem, o planejamento das coletas de campo deve considerar os seguintes aspectos principais:

- **Segurança do trabalhador**: importante aspecto a ser considerado é a segurança do trabalhador envolvido nos procedimentos de coleta e manuseio das amostras. Para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto, os procedimentos necessários para a proteção do trabalhador não diferem daqueles tipicamente adotados para o trabalho em que haja exposição ao esgoto. Esse tema merece destaque, e é discutido com maior nível de detalhes na seção 2.4, deste capítulo.
- **Tipo e tempo de amostragem**: A coleta composta de 24 horas tem sido utilizada em grande parte dos estudos de monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto (Medema *et al.*, 2020; Ahmed *et al.*,

2020, Wu *et al.*, 2020; Sherchan *et al.*, 2020; La Rosa *et al.*, 2020; Lodder & de Roda Husman, 2020). Entretanto, especialmente no Brasil, quando é necessário monitorar diversos pontos distribuídos ao longo do sistema de esgotamento sanitário da cidade, a coleta de 24 horas torna-se inviável, sendo necessário considerar a utilização de períodos de amostragens menores, entre 4-6 horas. Experiências do presente Projeto Piloto demonstraram que, para o monitoramento de sub-bacias de esgotamento sanitário, no caso de amostras tomadas diretamente do sistema de coleta e interceptação do esgoto, a amostragem por um período de 4 horas no turno da manhã foi representativa das cargas virais eliminadas pelas pessoas infectadas pelo SARS-CoV-2, uma vez que as cargas virais detectadas no esgoto têm seguido as tendências da situação epidemiológica reportada para as regiões monitoradas, em termos de agravamento ou abrandamento da pandemia de COVID-19 ao longo do tempo. Estudo sobre os diferentes tipos de amostragem foi realizado no âmbito deste Projeto Piloto e os principais resultados são apresentados no Capítulo 5 – Contribuições específicas do Projeto Piloto para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto.

- **Volume de amostra**: é desejável que o volume da amostra composta para cada ponto da rede de monitoramento não seja inferior a 5 litros, a fim de possibilitar melhor representatividade durante o período de amostragem. Tomando-se por base esse volume (5 L) e considerando um período de amostragem de 4 horas, poderia ser coletada uma alíquota de 250 mL a cada 12 minutos, por exemplo. Nos casos de coletas contínuas, o ideal seria utilização de amostradores automáticos (ver item a seguir), em que diferentes volumes de alíquota podem ser ajustados para serem coletados ininterruptamente, perfazendo o volume total requerido.
- **Tipo de coleta**: a coleta das amostras pode ser feita de forma manual ou com o uso de amostradores automáticos. O emprego de amostradores automáticos agrega uma série de vantagens (p.ex. maior segurança para o operador, maior confiabilidade na composição e preservação das amostras, menor tempo despendido), mas há que se considerar que esses equipamentos nem sempre estão disponíveis. Caso seja feita a opção pela amostragem manual, pode-se avaliar a possibilidade de que uma mesma equipe de operadores se responsabilize pela coleta de amostras de um conjunto de dois ou três pontos, a cada hora, a depender da distância e facilidade de locomoção entre os pontos.
- **Preservação da amostra**: Em campo, durante todo o intervalo de coleta das amostras, deve-se assegurar que o conjunto das alíquotas coletadas per-

maneira sob temperatura igual ou inferior a 4 °C. Este procedimento é facilitado quando do uso de amostradores automáticos dotados de isolamento térmico (ver Figura 2.2). As amostras devem ser idealmente acondicionadas em frascos de polipropileno novos ou esterilizados em autoclave. Uma

vez entregues no laboratório, as amostras podem ser processadas em sequência, no mesmo dia, ou preservadas em geladeira, a 4 °C, para processamento em no máximo 7 dias (Wu *et al.*, 2020). Os procedimentos de análise são apresentados, resumidamente, na seção 2.5 deste capítulo.



Figura 2.2 – Amostragem realizada em um dos pontos de monitoramento (a) com detalhes do compartimento interno superior (b) e inferior (c) do amostrador automático de líquidos Étsus 1000

2.4 Segurança e proteção individual na coleta e manuseio de amostras de esgoto

As incertezas associadas às possíveis rotas de transmissão do novo coronavírus (SARS-CoV-2), especialmente durante os primeiros meses da pandemia no ano de 2020, trouxeram preocupação aos gestores do setor de esgotamento sanitário, em escala mundial, em relação à efetiva proteção dos trabalhadores envolvidos em atividades que implicam no contato direto ou indireto com esgoto, via superfícies e objetos contaminados. Logo, informações publicadas sobre a forma de guias e notas técnicas foram lançadas por importantes instituições internacionais, a exemplo

da *Occupational Safety and Health Administration (OSHA)*, do *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, e da *Water Environment Federation (WEF)*, todas situadas nos Estados Unidos. Em um esforço de trazer para a língua portuguesa as informações mais relevantes, ainda em um dos primeiros meses da pandemia no Brasil (março de 2020), a *International Water Association (IWA)* lançou um artigo sintetizando as recomendações disponíveis à época para a redução de riscos à saúde de operadores de estações de tratamento e redes coletoras de esgoto (Nolasco, 2020).

Entre os principais aspectos destacados nos referidos documentos está a menção da ausência de evidência

que sugira a necessidade de utilização adicional de equipamentos de proteção individual (EPIs) específicos para o SARS-CoV-2. Apesar do material genético deste vírus ter sido detectado em amostras de esgoto de diversos países (Chernicharo *et al.*, 2020; La Rosa *et al.*, 2020; Nemudryi *et al.*, 2020; Gonzalez *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020; Randazzo *et al.*, 2020; Wurtzer *et al.*, 2020), não há evidências que comprovem a transmissão da COVID-19 por meio do contato com o esgoto. Os estudos que avaliaram a viabilidade do SARS-CoV-2 nessas amostras até o momento sugerem que as partículas virais encontradas no esgoto não são capazes de infectar novos indivíduos (Rimoldi *et al.*, 2020; Westhaus *et al.*, 2020). Cabe ressaltar que a principal via de transmissão da COVID-19 é por meio do contato direto ou indireto com pessoas infectadas, por meio de secreções como a saliva ou gotículas respiratórias, que são expelidas quando a pessoa tosse, espirra ou fala (WHO, 2021).

Dessa forma, reitera-se que os procedimentos de proteção do trabalhador a serem mantidos não diferem daqueles tipicamente adotados para o trabalho em que haja exposição ao esgoto. Nesse sentido, pressupõe-se que os trabalhadores do setor de saneamento envolvidos em atividades que implicam no contato direto ou indireto com esgoto, via superfícies e objetos contaminados, tenham sido devidamente capacitados para a execução segura destas atividades. Os principais aspectos para a garantia da segurança dos trabalhadores do setor do saneamento, são discutidos a seguir.

2.4.1 Riscos associados aos trabalhadores do setor do saneamento

Os riscos laborais inerentes ao trabalho com esgoto são amplamente conhecidos. Dentre eles, estão os riscos associados aos agentes biológicos, em que estão incluídos bactérias, fungos, protozoários, helmintos e vírus, especialmente aqueles patogênicos, que podem eventualmente causar danos à saúde do trabalhador.

Os coronavírus são caracterizados por possuírem um frágil envelope lipídico que envolve seu material genético. Sua sobrevivência no ambiente, e conseqüentemente sua capacidade de infectar novos indivíduos, está associada à manutenção da integridade dessa estrutura (Atkinson e Peterson, 2020).

Apesar da detecção do material genético do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto, não há evidências que comprovem a transmissão da COVID-19 por meio do contato com o esgoto.

Por esse motivo, esses vírus são conhecidos por serem menos resistentes no ambiente do que vírus não-envelopados (a exemplo do adenovírus, norovírus, rotavírus e o vírus da hepatite A) e possuem tempo de sobrevivência baixo comparados a outros microrganismos que também são encontrados nos esgotos (Gundy *et al.*, 2008).

Embora ainda possam existir incertezas acerca dos riscos associados às possíveis rotas de transmissão do SARS-CoV-2 por meio dos esgotos, as evidências até o momento apontam que esses riscos não justificam medidas de proteção mais conservadoras do que aquelas já adotadas por trabalhadores do setor de esgotamento sanitário. Essas medidas são discutidas a seguir.

2.4.2 Medidas de controle para proteção dos trabalhadores do setor de esgotamento sanitário

No que tange aos riscos associados aos agentes biológicos (incluindo o SARS-CoV-2), a segurança dos trabalhadores do setor de esgotamento sanitário pode ser garantida por meio da implementação de uma hierarquia de ações e práticas de rotina que evitem a exposição aos esgotos. As medidas encontram amparo nas recomendações da WEF e incluem as seguintes formas de controle (WEF, 2020):

- Adaptação da infraestrutura: geralmente requer uma mudança física no local de trabalho, por exemplo, para que os operadores não entrem em contato com o esgoto, aerossóis ou ar contaminado.
- Medidas de controle administrativas e práticas seguras no ambiente de trabalho: requer alterações de políticas e procedimentos no desempenho das funções no ambiente de trabalho para que as atividades possam ser conduzidas com segurança.
- Utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs): importante para proteção dos trabalhadores quando somente as medidas de controle associadas à infraestrutura e às medidas administrativas não são suficientes. Os EPIs requeridos são reportados no item 2.4.3.

Esta hierarquia de ações e práticas de rotina é apresentada com maior nível de detalhes na Figura 2.3. Notar que as medidas de proteção do trabalhador relacionadas especificamente ao SARS-CoV-2 não têm qualquer nexo com o esgoto, mas sim com as formas usuais de transmissão da COVID-19 em qualquer grupo da população, a exemplo do distanciamento social, higienização das mãos etc.

Adicionalmente, recomenda-se que os empregadores implementem programas de prevenção contra a COVID-19 no local de trabalho. A elaboração e o de-

MEDIDAS DE CONTROLE PARA PROTEÇÃO DOS TRABALHADORES DO SETOR DE ESGOTAMENTO SANITÁRIO

INFRAESTRUTURA	MEDIDAS ADMINISTRATIVAS E BOAS PRÁTICAS NO TRABALHO	EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL (EPIS)
<ul style="list-style-type: none"> • Utilizar de barreiras físicas para prevenir a exposição dos trabalhadores a gotículas de esgotos. • Isolar, por meio de barreiras físicas, as unidades que podem produzir aerossóis (Ex.: zonas de mistura, ponto de descarga de tanques, linhas pressurizadas). • Incorporar equipamento que garanta a renovação contínua da atmosfera interior.* 	<ul style="list-style-type: none"> • Lavar as mãos com água e sabão: imediatamente após manusear amostras de esgoto, antes de comer ou beber, antes e depois de utilizar o banheiro. • Evitar tocar o rosto, boca, olhos, nariz ou feridas abertas durante o trabalho. • Antes de comer, remover as roupas utilizadas no trabalho e realizar as refeições em áreas designadas para esta finalidade. • Não fumar ou mascar chiclete. • Manter os ferimentos (como cortes e arranhões) cobertos com curativos limpos e secos. • Remover as roupas utilizadas no trabalho antes de deixar o local de trabalho. • Manter o distanciamento social de no mínimo 1,5m sempre que possível. 	<ul style="list-style-type: none"> • Utilizar EPIs adequados de acordo com as tarefas a serem desempenhadas e de acordo com o local de trabalho e potenciais formas de exposição (ver item 2.4.3). • Realizar treinamento com os trabalhadores para garantir a utilização correta dos EPIs, incluindo como usar/vestir, lavar, desinfetar e armazenar ou descartar.

EM CASO DE EXPOSIÇÃO DO TRABALHADOR AO ESGOTO:

- Lavar os olhos com água limpa.
- Em caso de ferimentos, lavar com água e sabão.
- Fornecer ao trabalhador uma avaliação e monitoramento médico, especialmente no caso de ferimentos.
- Desinfetar a roupa contaminada com água sanitária (com solução de cloro a 0,05%).

* Ainda não há recomendações consolidadas acerca da taxa de renovação do ar, todavia, entende-se que a adoção de uma taxa da ordem de 10 vezes por hora, recomendada para o controle de odores, seja um ponto de partida para avaliação.

Figura 2.3 - Medidas de controle para proteção de trabalhadores do setor de esgotamento sanitário.
Fonte: Adaptado de WEF (2020)

envolvimento desses programas devem incluir representantes dos trabalhadores e o seu escopo deve conter: (i) a condução de uma avaliação de riscos no ambiente de trabalho; (ii) a identificação e aplicação de medidas que limitem a disseminação da COVID-19 no ambiente de trabalho; (iii) a adoção de medidas que garantam que os trabalhadores eventualmente infectados ou com suspeita da infecção sejam isolados e enviados para a casa do local de trabalho; e (iv) implementação de proteções contra possíveis retaliações para trabalhadores que levantarem questões relacionadas à COVID-19 (OSHA, 2021).

2.4.3 Escolha e uso dos EPIs adequados para a tarefa de coleta de amostras de esgoto

Para a atividade de coleta de amostras de esgoto, quer seja de forma manual ou por meio de amostradores automáticos de líquidos, o operador deverá proteger as vias aéreas, os olhos, cabeça e mãos, além de utilizar vestimenta adequada à atividade desenvolvida, tais como calça longa e blusa impermeáveis (ou macacão impermeável) e bota de couro ou de borracha, que possuam bom conforto térmico e resistência a cortes e respingos de esgoto. As botas devem ser do tipo impermeável, sem cadarços, a fim de melhorar e facilitar o processo de limpeza e descontaminação dos calçados.

Para proteção da face poderá ser utilizado escudo facial completo em policarbonato acrílico ou acetato (*faceshield*), ou ainda máscara de proteção semifacial respiratória (preferencialmente PFF2), associado a óculos de policarbonato ou acrílico de boa resistência. Para as mãos o ideal é que o operador tenha disponível luvas de látex ou nitrílicas descartáveis para atividades que demandem maior destreza e detalhes de movimentos com as mãos, e um outro par de luvas reutilizável e lavável de maior resistência, em PVC ou material semelhante impermeável, para atividades de maior esforço e atrito com as mãos.

No Quadro 2.2 são apresentados os EPIs que devem ser utilizados pelos operadores no momento da coleta das amostras de esgoto.

Quadro 2.2 - Equipamentos de Proteção Individual recomendados para a coleta de amostras de esgotos

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL			
Luvas de látex ou nitrílicas		Protetor facial (Faceshield)	
Luva de PVC ou borracha reutilizável e impermeável		Capacete	
Máscara PFF2*		Roupa impermeável	
Óculos de Proteção		Bota impermeável de couro ou borracha	

*PFF2: Peça Facial Filtrante

2.4.4 Procedimentos e ações de segurança no início e ao final da coleta de amostras de esgoto

A escolha do local de coleta das amostras de esgoto deve considerar, para além da efetiva representatividade das contribuições dos despejos na rede coletora, os poços de visita que ofereçam as melhores condições de segurança para os operadores, transeuntes e para o tráfego seguro de veículos. Toda atividade laboral possui riscos e está sujeita a acidentes, os quais são passíveis de serem significativamente evitados se as medidas adequadas de

segurança forem implementadas. O operador responsável pela coleta de amostras em campo, além de lidar com os riscos sanitários associados à manipulação direta de esgoto, também estará exposto ao tráfego de pessoas e veículos nos locais de monitoramento. Isso o coloca como responsável não somente por sua segurança individual, mas também de quaisquer pessoas que estejam nas proximidades do local. Dessa forma é importante que seja realizado o adequado isolamento dos locais de monitoramento considerando diferentes contextos conforme será descrito a seguir.

Em grandes centros urbanos, especialmente em países em desenvolvimento, os pontos de interesse epidemiológico para o monitoramento da rede coletora de esgoto podem se encontrar em locais de difícil acesso ou de intenso tráfego de pessoas e veículos, o que pode aumentar os riscos associados a montagem de equipamentos e atividades subsequentes de tomada de amostras em poços de visita (PV).

É imprescindível que os pontos de monitoramento confirmem o menor risco possível, em termos de quedas ou outras injúrias físicas, ao operador responsável pela coleta, bem como aos demais transeuntes no local. As montagens devem priorizar os PV que se encontram nas calçadas ou próximas às guias de calçada. Montagens na pista de rolagem, além de demandarem permissões especiais dos órgãos de trânsito, muitas vezes impactam negativamente o tráfego de veículos, além de aumentarem a exposição dos operadores e equipamentos a acidentes.

Ao chegar no local determinado para amostragem, o operador deve inicialmente buscar um local seguro e de boa visibilidade para estacionamento do veículo. Após essa ação, o local deve ser sinalizado com o auxílio de placas de identificação, cones e, quando necessário, fitas de isolamento, objetivando salvaguardar o local de abertura do PV, bem como direcionar o fluxo de pedestres e veículos para uma distância suficientemente segura da trajetória do PV destampado.

Para o caso de utilização de amostradores automáticos de líquidos, ao término do ciclo de amostragem, o operador deverá retirar a mangueira de coleta do PV, finalizar o aplicativo de comando do equipamento e iniciar o processo de purga da mangueira do amostrador, a fim de esvaziar por completo o seu interior. Para o caso de coleta manual, os utensílios devem ser completamente esvaziados, vertendo o líquido remanescente em frascos coletores para dentro do PV. Os materiais e equipamentos utilizados devem ser higienizados após a coleta, conforme recomendações descritas no item subsequente.

2.4.5 Higienização dos materiais de coleta, EPIs e veículos

As superfícies dos materiais e equipamentos utilizados durante a coleta devem ser limpas e desinfetadas utilizando sanitizantes adequados. A limpeza pode ser realizada com água e sabão, e tem como objetivo a redução da quantidade de microrganismos, a remoção de sujidades e impurezas. Para a desinfecção dos materiais pode ser utilizada solução desinfetante, como o hipoclorito de sódio, na concentração de 0,05%. De acordo com a WHO (2021), essa concentração é eficaz para a inativação de rotavírus, o qual é mais resistente que o SARS-CoV-2. O álcool 70% também pode ser

utilizado para a desinfecção de superfícies, sendo eficaz na inativação do SARS-CoV-2.

Os equipamentos de proteção individual (EPIs) devem ser lavados, desinfetados e armazenados corretamente para assegurar maior vida útil, efetivamente salvaguardando o trabalhador. O operador é responsável pela higienização e manutenção dos equipamentos utilizados para o trabalho. A limpeza e higienização dos EPIs deve ser cuidadosa, executada primeiramente com água e sabão e posteriormente com solução desinfetante, como hipoclorito de sódio em concentração igual a 0,05% ou álcool 70%. Os EPIs deverão ser armazenados em local adequado após sua higienização até a próxima utilização. Caso o EPI seja descartável, não reutilizar e realizar o descarte imediatamente após o uso em local adequado. Atenção deve ser dada ao prazo de validade dos EPIs, que devem ser descartados em local adequado imediatamente após vencido esse prazo. Adicionalmente, é fundamental que os técnicos de segurança do trabalho orientem os trabalhadores quanto a possíveis recomendações específicas do fabricante do EPI (previstas em manuais, por exemplo) relacionadas ao manuseio, higienização e conservação dos equipamentos.

No caso dos veículos utilizados no transporte, recomenda-se a desinfecção dos locais tocados com maior frequência, como maçanetas, volantes, câmbio, fivelas de cinto de segurança, controles de luz e ar-condicionado, controles de janelas, janelas e portas, no início ou ao final de cada turno de trabalho. Caso as superfícies estejam visivelmente sujas, primeiro deve ser aplicado água e sabão e posteriormente, pode ser aplicada solução desinfetante, como álcool 70%. Durante a higiene do veículo é importante manter as portas e janelas abertas.

2.5 Metodologia para detecção e quantificação do SARS-CoV-2

O método utilizado para a quantificação do SARS-CoV-2 requer uma etapa inicial de concentração do vírus a partir da amostra coletada, seguida da extração do RNA viral e posterior detecção e quantificação do SARS-CoV-2 por PCR quantitativo (qPCR), conforme vem sendo realizado em diversos estudos (Symonds *et al.*, 2014; Ahmed *et al.*, 2015; Ahmed *et al.*, 2020a). A Figura 2.4 apresenta um esquema das etapas metodológicas para a quantificação viral. A metodologia detalhada para a quantificação do SARS-CoV-2 pode ser obtida na nota técnica *Metodologia para concentração e quantificação do novo coronavírus em amostras de água e esgoto por técnicas moleculares* (disponível em pdf no site da ANA). A metodologia de quantificação foi adaptada a partir do Protocolo utilizado pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 2019).

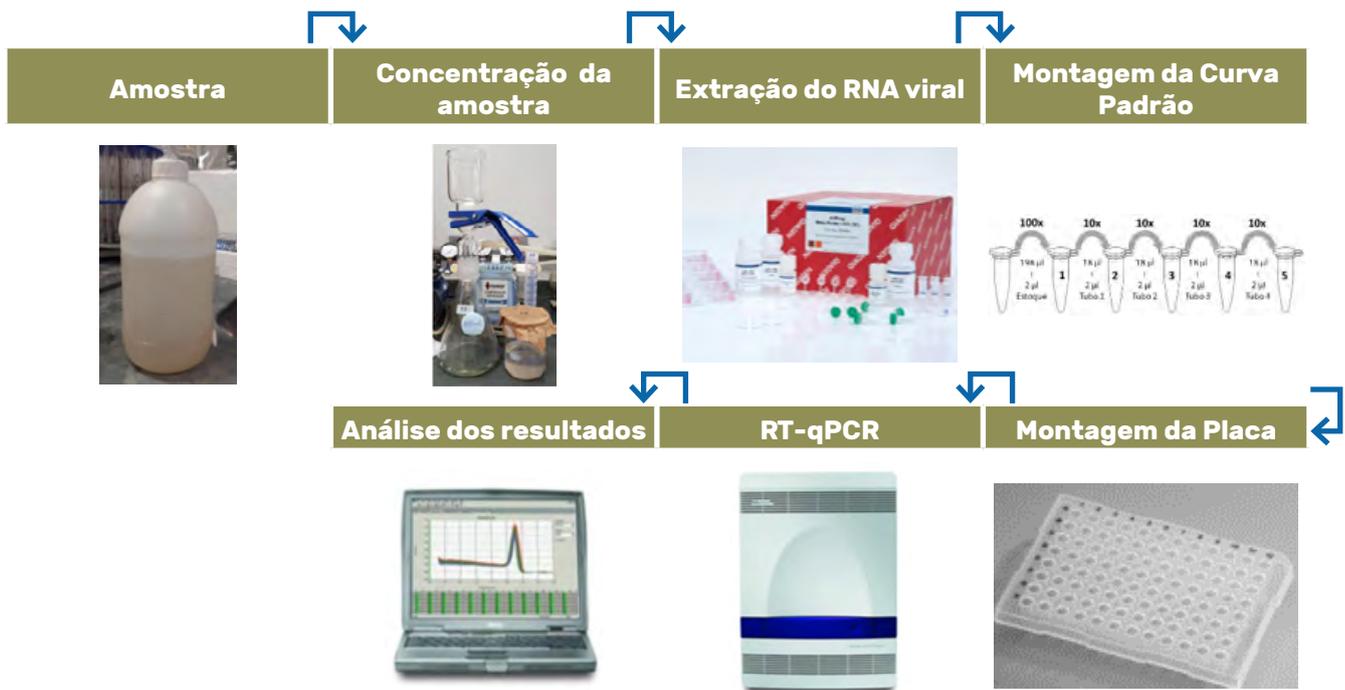


Figura 2.4 – Esquema da metodologia para quantificação do SARS-CoV-2 a partir de amostras de água e esgoto.

2.5.1 Concentração do vírus em amostras de água e esgoto

O processamento das amostras tem início na etapa de concentração das partículas virais, visto que as amostras de água e esgoto geralmente apresentam concentrações relativamente baixas do vírus. O método utilizado é uma modificação do método de adsorção-eluição em membranas eletronegativas (Katayama *et al.*, 2002; Symonds *et al.*, 2014), também conhecido como adsorção e extração direta (Ahmed *et al.*, 2015; Ahmed *et al.*, 2020).

Resumidamente, a etapa de concentração consiste em: (i) Adição de 1 mL de $MgCl_2$ (2,5 M) à um volume de 100 mL de amostra e posterior acidificação da amostra utilizando o ácido acético (1M) até que o pH esteja entre 3 e 3,5; (ii) Filtração da amostra (mínimo 10 mL para esgoto e 100 mL para água de rios) em membrana eletronegativa de éster de celulose, com poro de 0,45 μm ; (iii) Após filtração, transferir a membrana para tubo PowerBead, específico do Kit de extração de RNA AllPrep PowerViral DNA/RNA (Qiagen®, Hilden, Alemanha); (iv) Para minimizar os riscos de degradação do RNA, acrescentar 600 μL da solução PM1 do Kit de extração de RNA e solução de 6 μL 2-mercaptanol; e (v) armazenar o tubo contendo a membrana e as soluções à $-20\text{ }^\circ C$ até a realização da extração do RNA.

2.5.2 Extração do material genético do vírus

Neste método não se realiza a eluição dos vírus retidos na membrana, realizando a extração do material genético diretamente da membrana, utilizando

kit comercial de extração de ácidos nucleicos. A extração do RNA viral é realizada seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante do kit AllPrep PowerViral DNA/RNA (Qiagen®, Hilden, Alemanha). Em seguida, o RNA total da amostra é quantificado usando o NanoDrop™ Lite Spectrophotometer (ThermoFisher Scientific, Califórnia, Estados Unidos). Finalmente, a amostra é congelada a $-80\text{ }^\circ C$ até a quantificação por RT-qPCR.

2.5.3 Detecção e quantificação do SARS-CoV-2 por RT-qPCR

A detecção do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto é realizada pela técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em tempo real com transcrição reversa (RT-qPCR). O princípio da técnica consiste na transcrição reversa do RNA isolado das amostras de esgoto para cDNA e posterior amplificação do material genético no equipamento de PCR em Tempo Real. A Técnica RT-qPCR é considerada padrão ouro pela Organização Mundial da Saúde para a detecção do SARS-CoV-2, causador da COVID-19. Os primers e sondas (oligonucleotídeos marcados com fluorescência) para a detecção do SARS-CoV-2 foram selecionados a partir de regiões do gene que codifica para a proteína Nucleocapsídeo (N) do vírus (regiões N1 e N2).

Na Tabela 2.2 é apresentada a listagem dos reagentes validados no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA/UFMG) para a detecção e quantificação do SARS-CoV2 em amostras de água e esgoto por RT-qPCR.

Tabela 2.2 – Reagentes usados para a detecção e quantificação do SARS-CoV-2 por RT-qPCR

REAGENTE	DESCRIÇÃO	Nº CATÁLOGO
2019-nCoV RUO Kit (IDT)	Kit de primers/sondas, consiste em 2 ensaios específicos para o SARSCOV-2 (regiões N1 e N2 determinadas pelo CDC) e 1 controle interno humano (RPP30)	10006605 10006713
2019-nCoV_N_Positive Control (IDT)	Plasmídeo contendo a sequência completa do gene do Nucleocapsídeo do vírus 2019-nCoV, com as regiões N1, N2 e N3	10006625
Hs_RPP30 Positive Control (IDT)	Plasmídeo contendo a sequência completa do gene RPP30 Humano contendo regiões analisadas pelo 2019-nCoV RUO Kit.	10006626
MERS-CoV Control (IDT)*	Plasmídeo contendo a sequência completa do gene do Nucleocapsídeo dos vírus MERS. (Opcional)*	10006623
SARS-CoV Control (IDT)*	Plasmídeo contendo a sequência completa do gene do Nucleocapsídeo dos vírus SARS. (Opcional)*	10006624
Itaq Universal Sondas One Step Kit (Biorad)	Master Mix utilizado para as reações da qPCR, possui todos os reagentes necessários e a enzima Transcriptase Reversa para promover a transcrição em um único passo	1725141

*A utilização desses controles é OPCIONAL segundo o protocolo do Centers for Disease Control and Prevention.

Para a preparação da reação de RT-qPCR, inicialmente deve-se proceder à diluição dos controles. Para o controle positivo (2019-nCoV_N) é sugerida uma diluição inicial de 100x, para obtenção de alíquota de trabalho com concentração igual a 2.000 cópias/ μ L. A alíquota com essa concentração é utilizada no 1º ponto da curva padrão. Para os controles SARS, MERS e HsRPP 30 sugere-se a diluição de 1.000X para alíquotas de trabalho com a concentração 200 cópias/ μ L. Essas diluições podem variar de acordo com cada laboratório, equipamento e Mix utilizados.

Em sequência a curva padrão é preparada utilizando o controle positivo 2019-nCoV_N para ambos os alvos (N1 e N2). Para a curva padrão são realizadas cinco diluições seriadas (de 10x) a partir da alíquota de trabalho do controle positivo previamente diluída 100x.

Após a distribuição do MasterMix, amostras e controles na microplaca de qPCR, ela é submetida às etapas de ciclagem no termociclador, conforme apresentado na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Protocolo de amplificação para detecção do SARS-CoV-2 por RT-qPCR para as regiões alvo N1 e N2

ETAPA	TEMPERATURA	TEMPO
Incubação para transcrição reversa (RT)	50°C	10 min
Ativação da enzima	95°C	2 min
Amplificação*	95°C	3s
	55°C	30 s

*45 ciclos

2.5.4 Análise dos resultados

Na Tabela 2.4 é apresentada a forma de interpretação dos resultados do RT-qPCR.

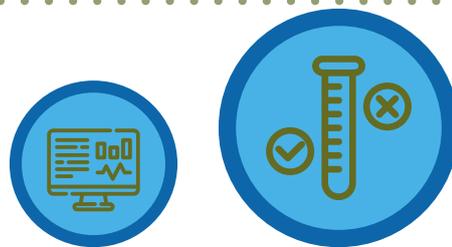


Tabela 2.4 – Interpretação dos resultados de amplificação

REGIÕES ALVO		RP*	NTC** (BRANCO)	RESULTADO	INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO
2019 NCOV_N1	2019 NCOV_N2				
+	+	+	-	Ct*** < 40	Positivo
				-	
+	-	+	-	Ct > 40	Negativo
-	+	+	-	SARS-Cov2 Detectado	Positivo para o alvo N1
-	-	-	-	SARS-Cov2 Detectado	Positivo para o alvo N2
				Inválido, pois não amplificou com o RP*	Inválido

* RP: RNase P – **Controle interno da reação**, material celular humano cultivado não infeccioso. Quando isso acontece pode-se refazer a reação de amplificação usando uma alíquota de RNA viral diluída 10x (assim dilui-se eventuais substâncias inibidoras da reação).

** NTC: corresponde ao branco da reação de RT-qPCR, pois utiliza-se água livre de nucleases.

***Ct - Ciclo *Threshold*

Para o cálculo do número de cópias dos genes por reação, utiliza-se as equações da reta obtidas a partir das Curvas Padrão. Por meio da equação da reta, obtém-se a quantidade em nº de cópias de RNA por reação das amostras investigadas. A exportação do arquivo excel dos resultados já nos apresenta os valores por reação, sendo necessário apenas padronizar o Fator de Conversão para as amostras.

A quantidade de RNA por mL de amostra de esgoto é obtida a partir do fator de conversão do resultado do número de cópias por reação e o volume de amostra que foi filtrado. A seguir é apresentado um exemplo referente a determinação do N° de cópias/mL de amostra filtrada de esgoto (resultado final).

Etapas:

- Resultado da reação qPCR (5 µL da amostra) → $9,5 \times 10^1$ cópias
- Eluição: 100 µL (volume no qual o RNA foi ressuspenso) → $20 \times 9,5 \times 10^1$ cópias
- Volume filtrado: 50 mL → $(20 \times 9,5 \times 10^1 \text{ cópias}) / 50$

Fator de Conversão = 0,4

Resultado final em N° cópias/mL de amostra filtrada → $3,8 \times 10^1$ cópias/mL*

* Para obter os resultados em N° de cópias/mL de amostra de esgoto, basta calcular o Fator de Conversão e multiplicar o valor obtido no equipamento por reação pelo Fator de Conversão.

Para o controle de qualidade dos resultados deve-se realizar a análise criteriosa de todas as corridas de qPCR, conforme os princípios teóricos da técnica. Alguns parâmetros a serem observados incluem o Threshold, os parâmetros da curva padrão (*slope*, *Y-intercept*, R^2 e eficiência) e, por fim, deve-se realizar a análise das triplicatas técnicas, sendo que o desvio padrão entre elas deve ser menor do que 0,5.

Informações mais detalhadas sobre a metodologia de detecção e quantificação do SARS-CoV-2 podem ser obtidas na nota técnica *Metodologia para concentração e quantificação do novo coronavírus em amostras de água e esgoto por técnicas moleculares* (disponível nos sites da ANA e do INCT ETEs Sustentáveis).

2.6 Considerações Finais

A elaboração de planos de monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto em países em desenvolvimento, como o Brasil, deve levar em consideração as particularidades regionais, de forma a contemplar as diferentes realidades existentes. O sucesso do plano de monitoramento depende sobremaneira da interlocução entre os atores envolvidos, sendo essencial que a concessionária local de esgotamento sanitário esteja interessada na realização do estudo e disponibilize equipes com pleno domínio de operações em campo. Ademais, é importante o envolvimento de equipe da área de saúde, para auxiliar na escolha dos hospitais de referência para a COVID-19 a serem

incluídos no Plano e para a disponibilização de dados do Sistema Único de Saúde (SUS) para o cruzamento com os resultados do monitoramento do esgoto.

A definição dos pontos de amostragem deve levar em consideração os objetivos do monitoramento. É importante também que sejam disponibilizados os traçados das redes coletoras para a escolha dos locais de realização das coletas. Aspectos como o tipo e tempo de amostragem, volume da amostra a ser coletada, preservação e transporte da amostra também devem ser considerados no planejamento do monitoramento.

A segurança dos trabalhadores envolvidos na coleta e manuseio das amostras de esgoto são aspectos essenciais a serem considerados no plano de monitoramento. Cabe salientar que os riscos associados ao SARS-CoV-2 não justificam medidas de proteção mais conservadoras além daquelas que já são adotadas por trabalhadores do setor de saneamento, tendo em vista que as evidências apontam que a COVID-19 não pode ser transmitida pelo contato com amostras de esgoto. É importante que os gestores proporcionem capacitação adequada aos trabalhadores, orientando sobre os procedimentos seguros para a realização da coleta e os cuidados que devem ser tomados durante o manuseio de amostras de esgotos, incluindo a correta utilização, higienização e conservação dos equipamentos de proteção individual.

Uma vez estabelecido o plano de monitoramento, as coletas podem ser iniciadas e as amostras encaminhadas ao laboratório para a análise. O método RT-qPCR vem sendo utilizado para a detecção e quantificação do SARS-CoV-2 em amostras de água e esgoto, o qual requer uma etapa de concentração viral, seguida de extração do material genético do vírus, para posterior quantificação do SARS-CoV-2 pelo PCR quantitativo.

2.7 Referências

ADELODUN, B., ODEDISHEMI, F., GBEMISOLA, R., OLALEKAN, H., CHOI, K., 2020. Snowballing transmission of COVID-19 (SARS-CoV-2) through wastewater: any sustainable preventive measures to curtail the scourge in low-income countries? **Science of the Total Environment**, 742, 140680.

AHMED W., HARWOOD V.J., GYAWALI P., SIDHU J. P. S., TOZE S. Comparison of concentration methods for quantitative detection of sewage-associated viral markers in environmental waters. **Applied and Environmental Microbiology**, 81(6), 2042-2049, 2015. DOI: 10.1128/AEM.03851-14.

AHMED W., ANGEL N., EDSON J., BIBBY K., BIVINS A., O'BRIEN J. W., CHOI P. M., KITAJIMA M., SIMPSON S. L., LI, J., TSCHARKE, B., VERHAGEN, R., SMITH, W. J. M., ZAUGG, J., DIERENS, L., HUGENHOLTZ, P., THOMAS, K. V., MUELLER, J. F. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. **Science of the Total Environment**, 728(138764), 1-8, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. 2019-Novel coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR panel primers and

probes. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html> (accessed 12 May, 2020).

CHERNICHARO, C. A. L., ARAÚJO, J. C., MOTA FILHO, C. R., BRESSANI-RIBEIRO, T., CHAMHUM-SILVA, L. A., LEAL, C. D., LEROY, D., MACHADO, E., CORDERO, M. F. E., AZEVEDO, L. S., FERNANDES, L., LEÃO, T., LAGUARTIA, F., REIS, M. T. P., MELO, M. C., AYRIMORAES, S. R. Monitoramento do esgoto como ferramenta de vigilância epidemiológica para controle da COVID-19: Estudo de caso na cidade de Belo Horizonte. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Edição Especial COVID-19, p.1-12, 2020.

DAVÓ, L., SEGUÍ, R., MAESTRE, J. F., SÁNCHEZ, G., NAVARRO, D. Early detection of SARS-CoV-2 infection cases or outbreaks at nursing homes by targeted wastewater tracking. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27 (7), 1061-1063, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.02.003>.

GONÇALVES, J., KORITNIK, T., MIOČ, V., TRKOV, M., BOLJEŠIČ, M., BERGINC, N., PROSENC, K., KOTAR, T., PARAGI, M. Detection of SARS-CoV-2 RNA in hospital wastewater from a low COVID-19 disease prevalence area. **Science of the Total Environment**, 143226, 2020.

GUNDY, P.M., GERBA, C.P., PEPPER, I.L. Survival of coronaviruses in water and wastewater. **Food and Environmental Virology**, 1, 10-14, 2009.

HARRIS-LOVETT, S.; NELSON, K.; BEAMER, P.; BISCHEL, H. N.; BIVINS, A.; BRUDER, A.; BUTLER, C.; CAMENISCH, T. D.; DE LONG, S. K.; KARTHIKEYAN, S.; LARSEN, D. A.; MEIERDIERCKS, K.; MOUSER, P.; PAGSUYOIN, S.; PRASEK, S.; RADNIECKI, T. S.; RAM, J. L.; ROPER, D. K.; SAFFORD, H.; SHERCHAN, S. P.; SHUSTER, W., STALDER, T., WHEELER, R. T., KORFMACHER, K. S. Wastewater surveillance for SARS-CoV-2 on college campuses: Initial efforts, lessons learned and research needs. Preprint. **MedRxiv: the preprint server for health sciences**, 2021.02.01.21250952, 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.02.01.21250952>

HELLER, L., MOTA, C.R., GRECO, D.B. COVID-19 faecal-oral transmission: are we asking the right questions? **Science of the Total Environment**, 729, 138919, 2020.

KATAYAMA, H., SHIMASAKI, A., OHGAKI, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, 68, 1033-1039, 2002. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.3.1033-1039.2002>

KUMAR, M., PATEL, A.K., SHAH V. A., RAVAL, J., RAJPARA, N., JOSHI, M., JOSHI, C.G. First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARS-CoV-2. **Science of the Total Environment**, 746, 141326, 2020.

LA ROSA, G., M. IACONELLI, P. MANCINI, FERRARO, G.B., VENERI, C., BONADONNA L., LUCENTINI, L., SUFFREDINI, E. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. **Science of the Total Environment**, 736, 139652, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139652>.

LODDER, W.; HUSMAN, A. M. R. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. **The Lancet. Gastroenterology & Hepatology**, 5(6), 533-534, 2020. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30087-X](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30087-X).

MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R.; BROUWER, A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. **Environmental Science & Technology Letters**, acs.estlett.0c00357, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>.

NEMUDRYI, A., NEMUDRAIA, A., SURYA, K., WIEGAND, T., BUYUKYORUK, M., WILKINSON, R., WIEDENHEFT, B. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. **Cell Reports Medicine**, 1, 100098, 2020.

NOLASCO, D. COVID-19 Guia para reduzir riscos à saúde de operadores de estações de tratamento de esgotos e redes de esgoto. International Water Association (IWA), 1-5, 2020.

OSHA - Occupational Safety and Health Administration. United States Department of Labor. 2021. COVID-19. Control and Prevention. Disponível em: <https://www.osha.gov/coronavirus/control-prevention>. Acesso em: 27 de março de 2021.

RANDAZZO, W., TRUCHADO, P., CUEVAS-FERRANDO, E., SIMÓN, P., ALLENDE, A., SÁNCHEZ, G. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. **Water Research**, 181, 1-8, 2020.

RIMOLDI, S. G., STEFANI, F., GIGANTIELLO, A., POLESSELLO, S., COMANDATORE, F., MILETO, D., MARESCA, M., LONGOBARDI, C., MANCON, A., ROMERI, F., PAGANI, C., CAPPELLI, F., ROSCIOLI, C., MOJA, L., GISMONDO, M.R., SALERNO, F. Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. **Science of the Total Environment**, 744, 140911, 2020.

SHERCHAN, S. P., SHAHIN, S., WARD, L. M., TANDUKAR, S., AW, T. G., SCHIMITZ, B. AHMED, W., KITAJIMA, M. First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA. **Science of the Total Environment**, v. 15 (743), 140621, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140621.

SYMONDS, E. M., VERBYLA, M. E., LUKASIK, J. O., KAFLE, R. C., BREITBART, M., MIHELICIC, J. R. A case study of enteric virus removal and insights into the associated risk of water reuse for two wastewater treatment pond systems in Bolivia. **Water Research**, 65, 257-270, 2014.

TSUTIYA, M. T., ALEM SOBRINHO, P. 1999. **Coleta e transporte de esgoto sanitário**. São Paulo: EPUSP/PHD.

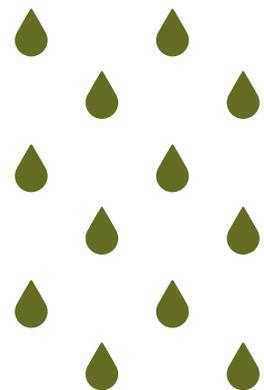
WEF - Water Environmental Federation. The water professional's guide to COVID-19. Disponível em: <https://www.wef.org/news-hub/wef-news/the-water-professionals-guide-to-the-2019-novel-coronavirus/>. Acesso em 25 de março de 2021.

WESTHAUS, S., WEBER, F.-A., SCHIWY, S., LINNEMANN, V., BRINKMANN, M., WIDERA, M., GREVE, C., JANKE, A., HOLLERT, H., WINTGENS, T., CIESEK, S. Detection of SARS-CoV-2 in raw and treated wastewater in Germany – suitability for COVID-19 surveillance and potential transmission risks. *Science of the Total Environment*, 751, 141750, 2021.

WHO - World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19): How is it transmitted? Disponível em: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-COVID-19-how-is-it-transmitted#:~:text=COVID%2D19%20is%20caused%20by,speak%2C%20sing%20or%20breathe%20heavily>. Acesso em 25 de março de 2021.

WU, F.; ZHANG, J.; XIAO, A.; GU, X.; LEE, W. L.; ARMAS, F.; KAUFFMAN, K.; HANAGE, W.; MATUS, M.; GHAELI, N.; ENDO, N.; DUVALLET, C.; POYET, M.; MONIZ, K.; WASHBURN, A. D.; ERICKSON, T. B.; CHAI, P. R.; THOMPSON, J.; ALM, E. J. SARS-CoV-2 Titers in Wastewater Are Higher than Expected from Clinically Confirmed Cases. **mSystems**, 5(4), e00614-20, 2020. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00614-20>.

WURTZER, S.; MARECHAL, V.; MOUCHEL, J. M.; MADAY, Y.; TEYSSOU, R.; RICHARD, E.; ALMAYRAC, J. L.; MOULIN, L. Evaluation of lockdown effect on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in waste water, Greater Paris, France, 5 March to 23 April 2020. **Euro surveillance: bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin**, 25(50), 2000776, 2020. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.50.2000776>.





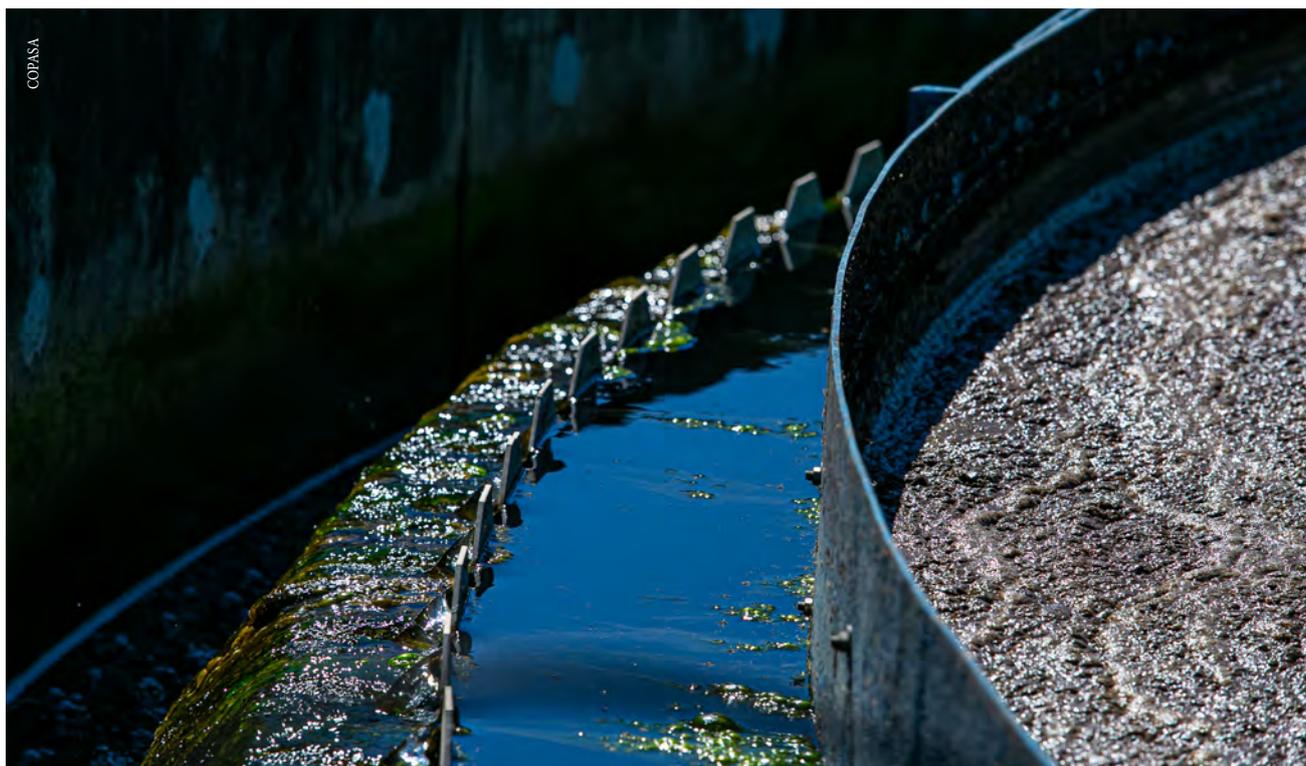
Evolução temporal da carga viral nos esgotos afluentes às ETEs

Neste item será apresentada a análise geral dos dados relativos à presença, concentração e carga do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos afluentes às duas grandes Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) de Belo Horizonte – ETE Arrudas (ETE01) e ETE Onça (ETE02) – durante todo o período de monitoramento do projeto piloto, compreendido entre 06 de maio de 2020 e 25 de maio de 2021, que corresponde às semanas epidemiológicas 19 a 53 de 2020 e 01 a 21 de 2021. As análises foram realizadas uma vez por semana. Ressalta-se que os resultados do monitoramento apresentados no presente documento também podem ser consultados no painel online (dashboard) disponível no site do Sistema Nacional de Informações sobre Recursos Hídricos (SNIRH): <http://www.snirh.gov.br/portal/snirh/snirh-1/paineis-de-indicadores>. O Painel de Monitoramento COVID Esgotos apresenta resultados do Projeto Piloto, referente ao presente documento, bem como resultados da Rede Monitoramento COVID Esgotos, que

compreende o monitoramento das ETEs e outras localidades em Belo Horizonte, Brasília, Curitiba, Recife, Rio de Janeiro e Fortaleza.

3.1 Detecção e concentração do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos

Desde o início do monitoramento contínuo, a partir de 6 de maio de 2020 (semana epidemiológica 19), detectou-se o vírus SARS-CoV-2 nos esgotos afluentes às ETEs Arruda e Onça, mas em concentrações muito baixas. Somente a partir de meados de junho de 2020 que as concentrações passaram a ser superiores ao limite de detecção (LD) do método (Figuras 3.1a e 3.1b). Na Figura 3.2 são apresentadas as concentrações do material genético do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos na entrada das ETEs Arrudas e Onça e o número de casos novos confirmados semanalmente de COVID-19 em Belo Horizonte.



COPASA

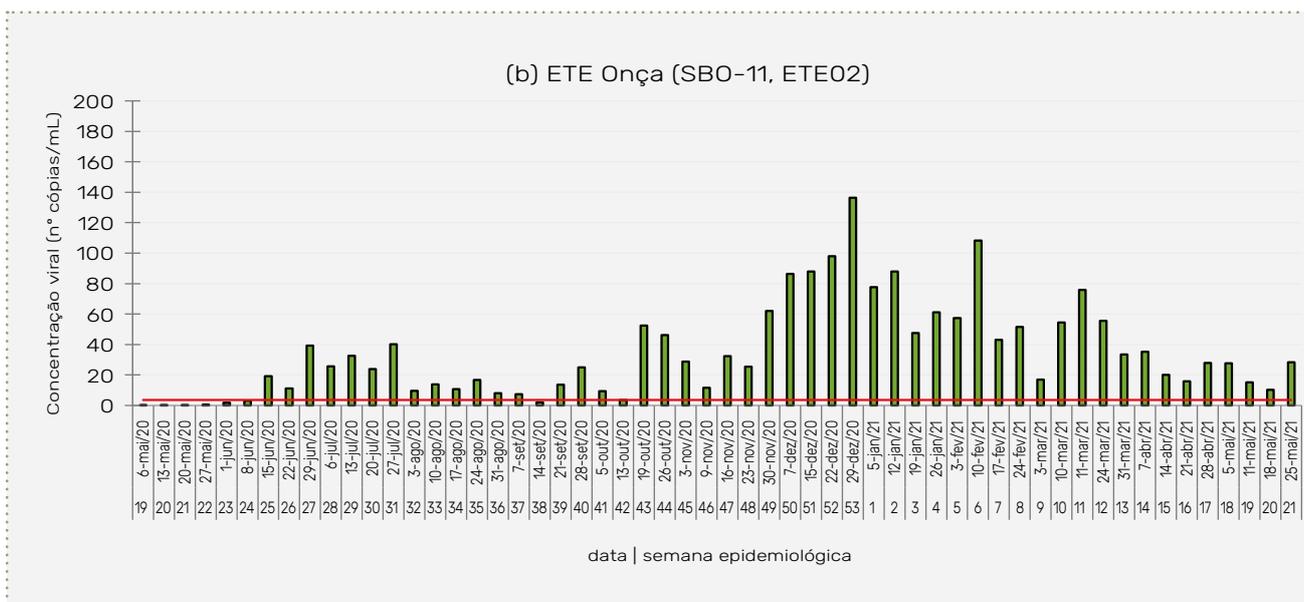
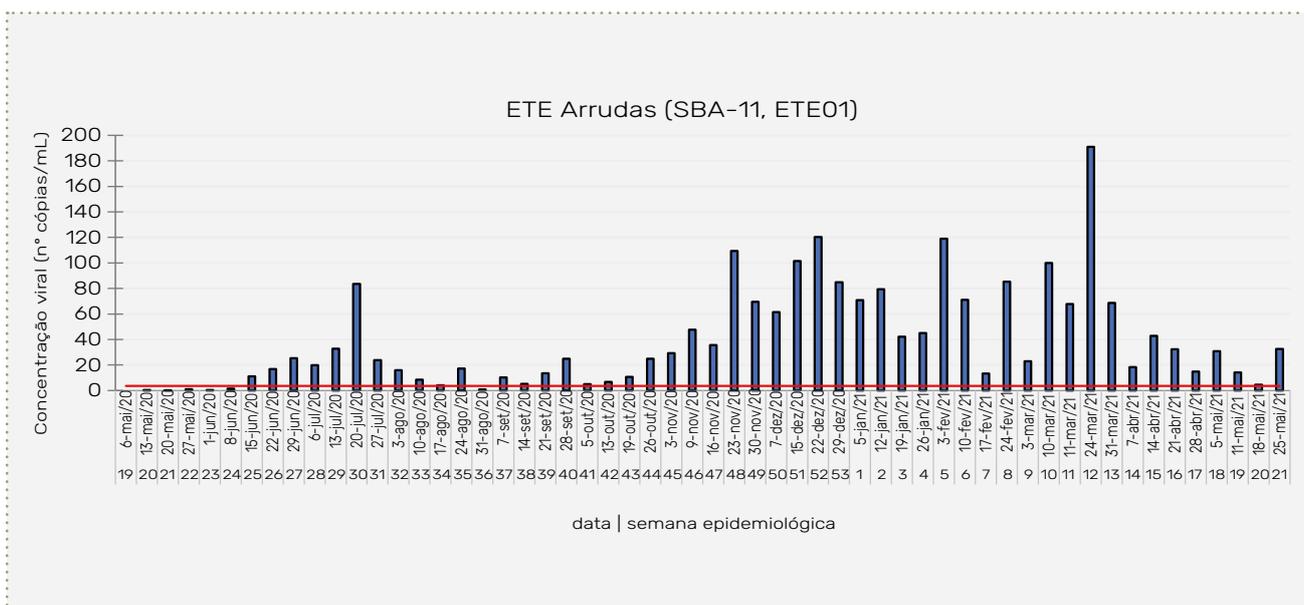


Figura 3.1 – Concentrações do material genético do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos na entrada das ETEs Arrudas (a) e Onça (b). Linha vermelha = limite de detecção do método (3,6 cópias/mL).

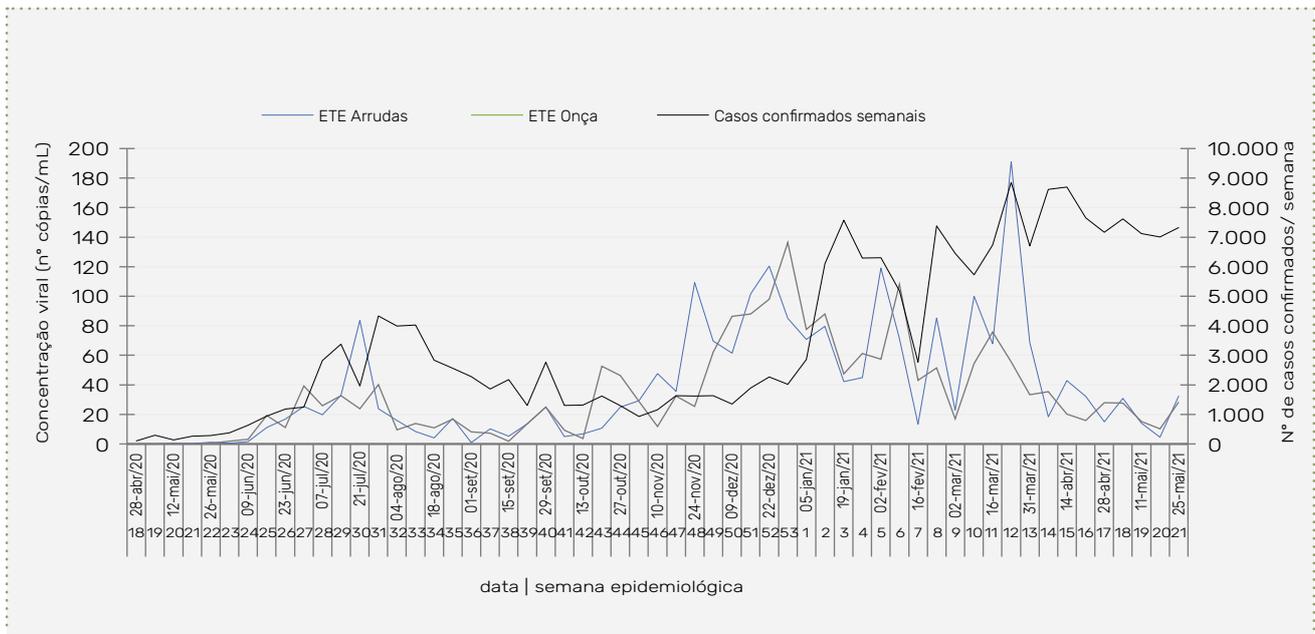
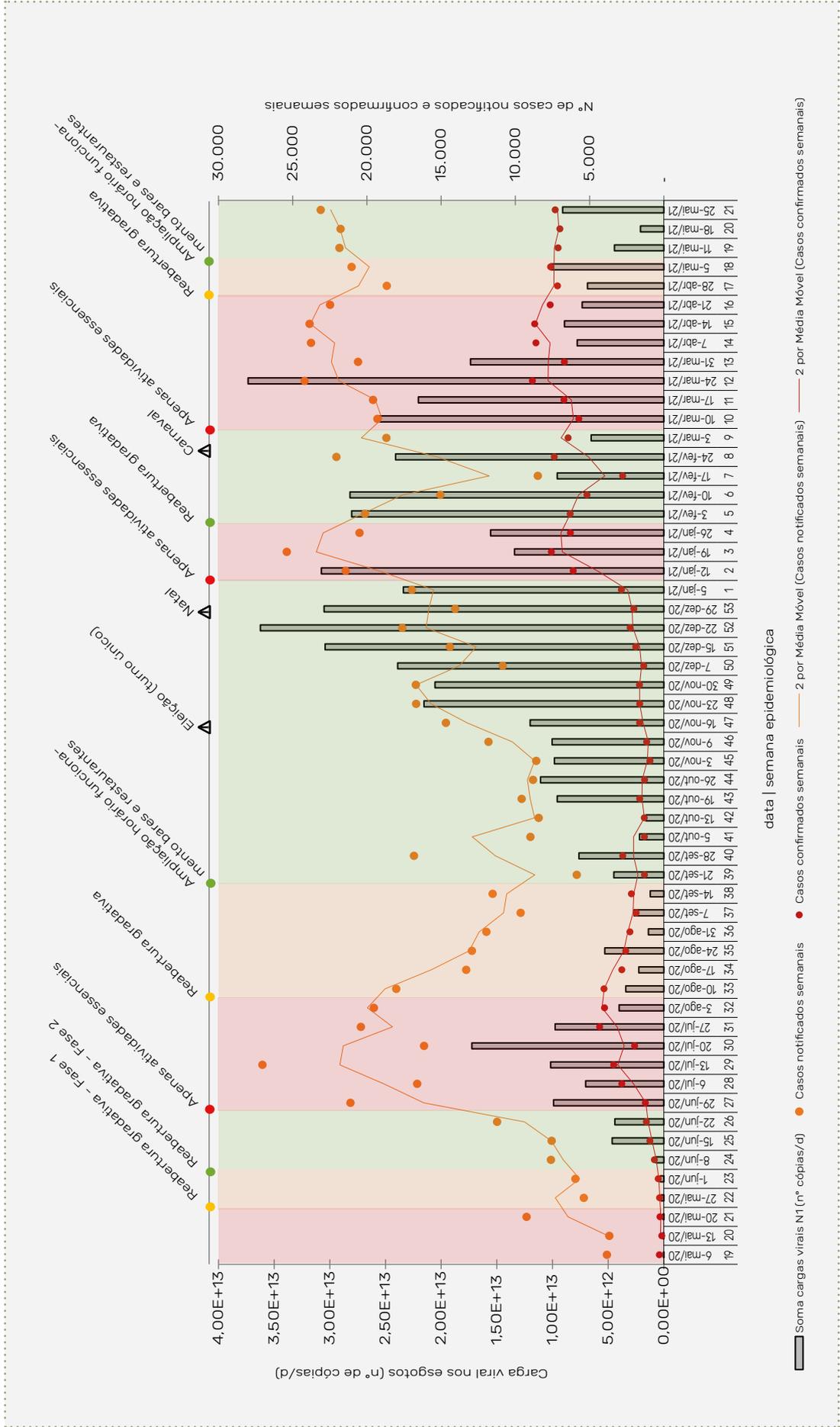


Figura 3.2 – Concentrações do material genético do vírus nos esgotos afluentes às ETEs Arrudas e Onça e o número de novos casos confirmados semanalmente de COVID-19 em Belo Horizonte

Verifica-se que concentrações do material genético do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos na entrada das ETEs Arrudas e Onça apresentaram valores e tendências muito similares, evidenciando a robustez dos resultados. Analisando as concentrações virais em conjunto com o nº de novos casos semanais de COVID-19 confirmados em Belo Horizonte, nota-se que as ondas observadas para as concentrações do vírus nos esgotos antecipam, em algumas semanas, àquelas observadas para o número de novos casos de COVID-19. O fato de a excreção do vírus nas fezes poder se iniciar antes da manifestação dos sintomas, de se levar um tempo entre o início dos sintomas e a realização dos testes, e de os resultados dos testes demorarem alguns dias para serem obtidos e divulgados explicam em parte a detecção precoce do vírus nos esgotos em relação à confirmação de casos. Esse fenômeno será discutido em maiores detalhes no item 3.2, em que se relaciona a carga viral e o número de casos suspeitos e confirmados de COVID-19. Os dados apenas de concentração viral fornecem informações das tendências, mas, por serem mais passíveis de oscilações por fatores externos, como índices pluviométricos e hábitos da população, são especialmente úteis para se obter os dados das cargas virais quando se tem os valores das vazões de esgotos.

3.2 Carga viral, casos notificados e confirmados de COVID-19, e medidas adotadas para contenção do vírus SARS-CoV-2

Na Figura 3.3 é apresentada a evolução da carga viral do SARS-CoV-2 detectada em 56 semanas consecutivas de monitoramento do afluente nas duas grandes estações de tratamento de esgoto de Belo Horizonte, paralelamente com o número de casos confirmados de COVID-19 e notificados (correspondente aos casos suspeitos, confirmados e descartados) reportados pela Prefeitura de Belo Horizonte (PBH) nesse período. Esse período compreende 06 de maio de 2020 a 25 de maio de 2021, referente às semanas epidemiológicas 19 a 53 de 2020 e 01 a 21 de 2021. Para auxiliar na análise dos dados referentes ao monitoramento do esgoto e da saúde, foi inserida uma linha do tempo com os principais estágios de funcionamento das atividades em Belo Horizonte (vide protocolos de funcionamento da PBH e calendário de reabertura das atividades), bem como algumas datas potencialmente associadas a aglomerações e maior risco sanitário.



*Casos notificados: casos suspeitos, confirmados e descartados

Figura 3.3 – Evolução temporal da carga viral detectada a partir do monitoramento do esgoto em Belo Horizonte em relação ao número de casos confirmados e notificados de COVID-19 reportados pela PBH.

Verifica-se que a série de carga viral no esgoto seguiu tendência similar à de casos notificados (soma dos casos suspeitos, confirmados e descartados), sendo que na 2ª onda os picos nas concentrações virais do esgoto anteciparam a subida do número de casos. Tal semelhança pode ser observada, por exemplo, na fase de agravamento da 1ª onda da pandemia em Belo Horizonte, em julho de 2020, bem como no seu posterior abrandamento, em agosto e meados de setembro de 2020. Em relação aos casos confirmados, verifica-se que os picos nas cargas virais foram antecedentes, corroborando o potencial de utilização do monitoramento dos esgotos como ferramenta epidemiológica especialmente para alerta precoce. Assim, por exemplo, as cargas virais medidas nos esgotos apresentaram aumentos marcantes em dezembro de 2020, vários dias antes do registro do grande aumento do número de casos confirmados no início de 2021. Em 29/12/20, a carga viral era de $3,05 \times 10^{13}$ cópias/d e o nº de casos notificados, confirmados e em acompanhamento eram 14053, 2019 e 3110, respectivamente. Duas semanas após, a carga viral permanecia no mesmo patamar ($3,08 \times 10^{13}$ cópias/d), mas os casos de COVID-19 aumentaram muito, registrando-se 6105 novos casos confirmados entre as semanas epidemiológicas 1 e 2 de 2021. Tal aumento resultou na instalação de uma crise sanitária que levou à publicação de

decreto para a suspensão de todas as atividades não essenciais em 11 de janeiro de 2021.

Por análise de regressão linear dos dados até final de março de 2021, endossa-se a observação da antecipação das tendências verificadas nas cargas virais nos esgotos em relação ao número de casos confirmados de COVID-19 na cidade de Belo Horizonte. Deslocando-se para a esquerda os dados do nº de casos confirmados em quatro semanas foi obtido o melhor coeficiente de determinação (Figura 3.4). Os valores de R^2 para nenhum deslocamento e deslocamento para a esquerda (antecipação) dos dados de nº de casos confirmados em uma, duas, três, quatro e cinco semanas foram de 0,28, 0,27, 0,37, 0,49, 0,55 e 0,43, respectivamente.

Em relação aos casos confirmados, verifica-se que os picos nas cargas virais foram antecedentes, corroborando o potencial de utilização do monitoramento dos esgotos como ferramenta epidemiológica especialmente para alerta precoce.

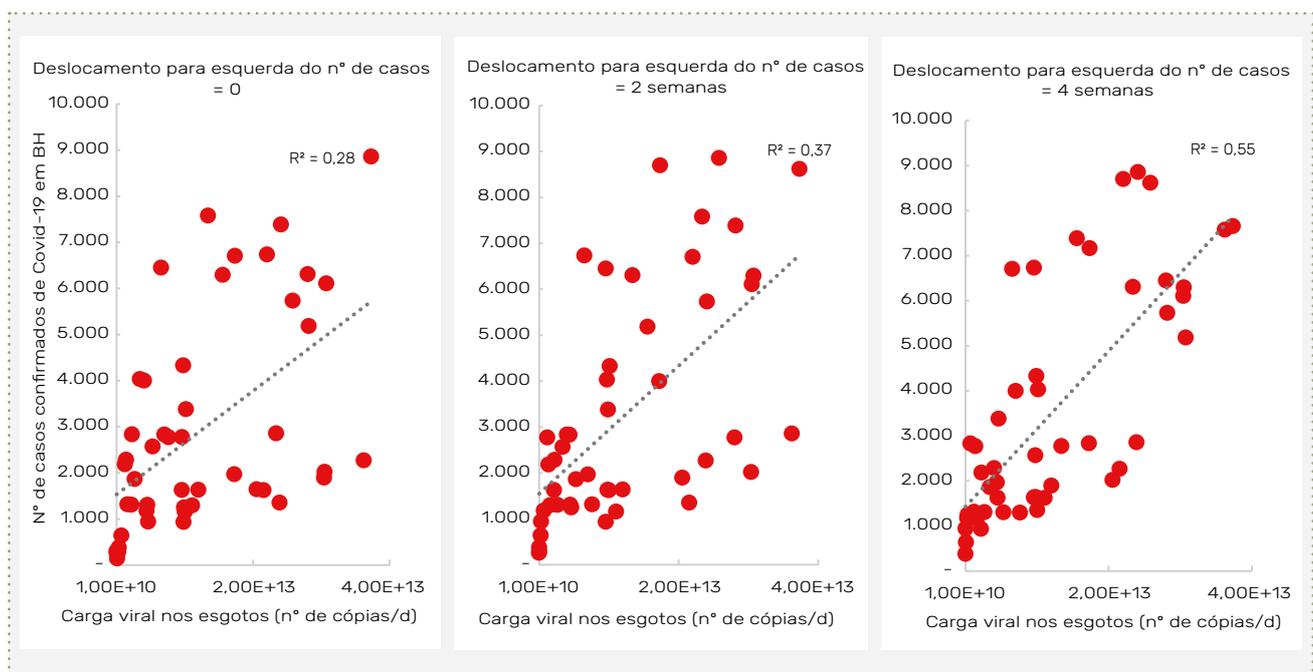


Figura 3.4 – Análise de regressão linear correlacionando o nº de casos confirmados de COVID-19 e a carga viral de SARS-CoV-2 nos esgotos, deslocando para a esquerda os dados do nº de casos em 0, 2 e 4 semanas.

Outros trabalhos também constataram a antecipação do aumento das cargas virais em relação à notificação de casos de COVID-19. Entretanto, os in-

tervalos de tempo (*lag time*) entre a carga viral nos esgotos e o registro de casos positivos ou hospitalizações geralmente foram inferiores a 10 dias (Kaplan

et al., 2021; Huisman *et al.*, 2021; Galani *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2022). O tempo para a realização e obtenção de resultados dos testes de COVID-19, reportagem dos casos positivos, limitações das amostragens e análises dos esgotos, variações diárias no tamanho da população, e outros fatores relacionados às respostas sociais à pandemia influenciam nos intervalos de tempo entre as observações das análises de carga viral nos esgotos e os casos confirmados de infectados nas cidades (Galani *et al.*, 2022).

Além do potencial de alerta precoce, ressalta-se que, como as taxas de testagem na população local no país são relativamente baixas (Worldometers, 2021), o monitoramento da carga viral nos esgotos auxilia na avaliação dos níveis de circulação do vírus e na tomada de decisões. Ainda, pela abrangência e possibilidade de frequência e amostragem definidas, o monitoramento nos esgotos contribui para a avaliação dos efeitos das medidas adotadas de controle da disseminação do SARS-Cov-2. Entretanto, os dados obtidos até o momento não são suficientes para prever os efeitos das medidas de restrição de circulação de pessoas nas cargas virais dos esgotos.

Vê-se que na primeira onda da COVID-19, apesar das medidas restritivas de isolamento social (decreto de suspensão das atividades não essenciais publicado em 29/06/20 e reabertura gradativa a partir de 06/08/20), as cargas virais nos esgotos apresentaram valores crescentes entre 06 e 20/07/20 (semanas epidemiológicas 28, 29 e 30). Como a ampla disseminação da COVID-19 era recente neste período, as cargas virais nos esgotos e o número de casos seguiram uma curva ascendente. Já na semana epidemiológica 31, as cargas virais foram menores e a tendência de redução sucedeu-se até 17/08/21 (análises das semanas epidemiológicas 31-34), mesmo com a reabertura gradual das atividades a partir de 06/08/21. Já em janeiro de 2021, o decreto para a suspensão das atividades não essenciais foi publicado em 11/01/21 e na semana seguinte a carga viral nos esgotos já havia sido bastante reduzida (análise realizada em 19/01/21). Em fevereiro de 2021 houve reabertura de algumas atividades, mas em 06/03/21 foi novamente decretada a suspensão de atividades não essenciais, que se manteve até 22/04/21. Porém, somente cerca de três semanas após a publicação do decreto, na análise realizada em 31/03/21, que se verificou uma redução expressiva nas cargas virais nos esgotos (semana epidemiológica 13 de 2021). Possíveis razões para a relativa demora para a verificação dos efeitos das medidas de contenção da disseminação do vírus nas cargas virais nos esgotos podem ser relacionadas às maiores taxas de contaminação nos ambientes domiciliares devido ao fato de que em março de 2021 a pandemia estava em seu momento mais crítico em Belo Horizonte, dificultando o seu controle, e, principalmente, à circulação de novas variantes do vírus (P1, P2, B.1.1.7). Similarmente,

Galani *et al.* (2022) retratam em Ática, Grécia, que a implementação do lockdown entre novembro de 2020 e janeiro de 2021 resultou na queda das cargas virais e do número de casos. Porém, o mesmo não foi observado com a implementação do terceiro lockdown em 20 de fevereiro de 2021, em que a carga viral nos esgotos e o número de casos apresentaram os maiores valores registrados até então no final de fevereiro e março de 2021. Os autores atribuem esse aumento em parte à prevalência crescente da variante alfa (B.1.1.7).

Assim, a avaliação dos efeitos das medidas adotadas por períodos mais longos (devido ao caráter de urgência, diversos decretos foram publicados e as medidas adotadas permaneceram por curtos intervalos de tempo), uma frequência maior de monitoramento (duas ou três vezes por semana), o monitoramento de variantes bem como a comparação com dados dessa natureza de outras cidades são fatores que devem ser levados em consideração para uma avaliação integrada das medidas sanitárias adotadas e seus impactos sobre a disseminação do vírus.

3.3 Estimativa da população infectada

Com base nas análises das cargas virais nos esgotos afluentes às ETEs Arrudas e Onça, foi feita uma estimativa da população infectada a partir das seguintes premissas:

Considerando uma concentração viral de aproximadamente 1×10^5 cópias de RNA por grama de fezes e adotando-se uma contribuição fecal de 200g por pessoa, no presente projeto adotou-se que a carga média seria de 2×10^7 cópias de RNA por pessoa por dia. Mas, como a carga viral per capita excretada é variável, adotou-se uma faixa entre 1×10^7 e 3×10^7 cópias de RNA por pessoa por dia.

Foi considerado também um fator de recuperação do material genético nas análises laboratoriais, de tal sorte que a concentração viral passou a variar entre 0, e 1,5 vezes o valor determinado em laboratório.

A partir destas faixas de valores, obteve-se um conjunto de valores de população estimada. Desse conjunto de dados, foram extraídos os valores correspondentes aos percentis 25, 50 e 75%, que, para fins de comunicação, são reportados como valores mínimo, médio e máximo, respectivamente.

As estimativas de infectados calculadas para cada semana foram então divididas por 6, que equivale a um número aproximado de semanas que um infectado pode excretar partículas virais nas fezes. Assim, as estimativas populacionais estimadas podem ser interpretadas como estimativas de novos infectados a cada semana.

A estimativa da população infectada a partir dessa metodologia é apresentada na Figura 3.5.

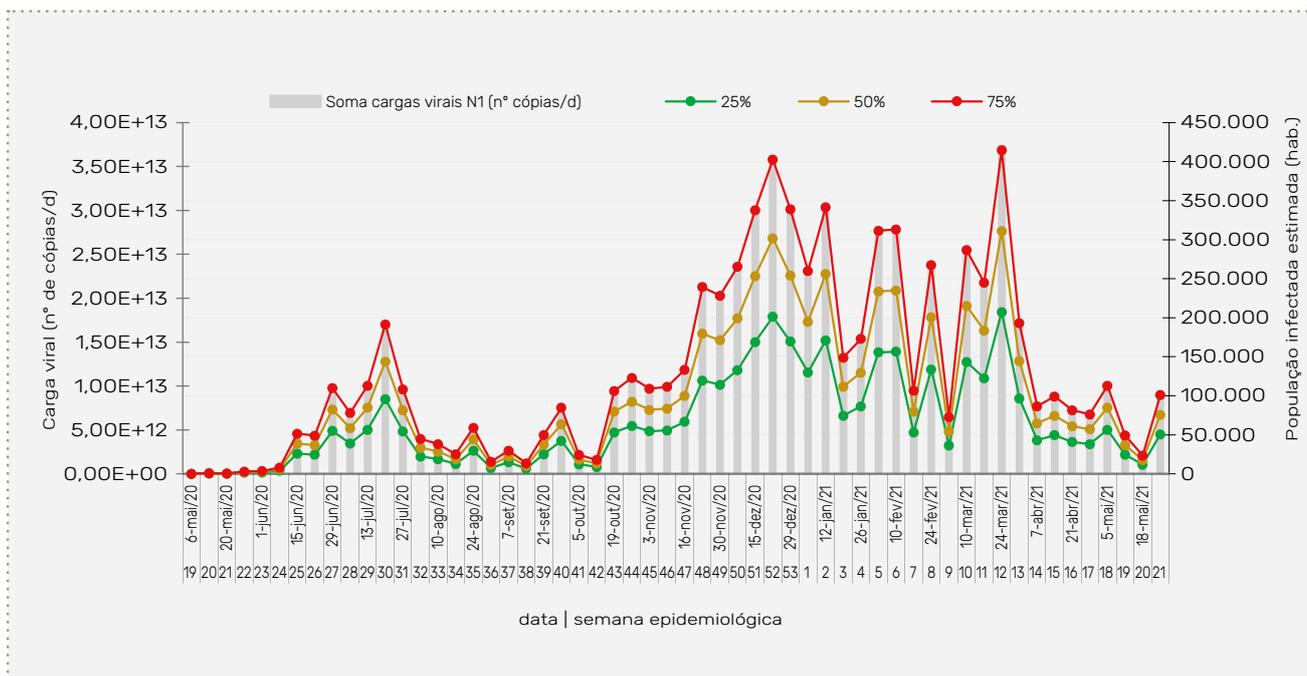


Figura 3.5 – Evolução da carga viral detectada a partir do monitoramento do esgoto em Belo Horizonte, juntamente com a faixa de estimativas da população infectada pelo SARS-CoV-2

Ressalta-se que os dados de população infectada estimada obtidos a partir do monitoramento dos esgotos apresentam grandes incertezas e não devem ser utilizados para fins de quantificação de população infectada. O principal objetivo dessa forma de divulgação é tão somente traduzir um dado técnico, complexo e de difícil interpretação pelo público leigo (concentração ou carga viral) para uma informação simples e acessível (população infectada estimada). Como pode ser verificado na Figura 3.5, os números da população infectada estimada superam o número total da população contribuinte de esgotos das ETEs monitoradas. A soma dos valores medianos (percentis 50%) da população infectada estimada no período de 6 de maio de 2020 a 25 de maio de 2021 equivale a quase 5,5 milhões de habitantes, enquanto a população contribuinte das ETEs é de aproximadamente 2,2 milhões de habitantes. Portanto, ajustes na metodologia de cálculo são necessários para se obter estimativas da população infectada mais verossímeis.

3.4 Considerações finais

O Projeto Monitoramento COVID Esgotos mostrou que o monitoramento do material genético do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos pode ser usado como ferramenta de vigilância epidemiológica da disseminação da COVID-19, evidenciando a circulação do vírus na comunidade espacialmente e ao longo do tempo. Já quando os primeiros casos da doença foram notificados na cidade de Belo Horizonte, a presença do vírus foi detectada em amostras de esgoto. Com o agrava-

mento da pandemia, verificou-se o aumento das cargas virais nos esgotos, em que os picos geralmente antecederam aos picos do número de casos registrados. Portanto, os dados gerados no monitoramento do esgoto podem ser usados para gerar alertas precoces acerca do incremento do número de pessoas infectadas localmente, contribuindo para que as autoridades possam implementar medidas de controle da propagação do vírus para prevenção de surtos e do aumento descontrolado dos casos. Embora tenha sido observada uma relação entre a carga viral nos esgotos e o número de casos notificados e confirmados de COVID-19 localmente, a estimativa da população infectada a partir das análises de monitoramento do esgoto necessita de ajustes na metodologia de cálculo.

3.5 Referências

GALANI, A.; AALIZADEH, R.; KOSTAKIS, M.; MARKOU, A.; ALYGIZAKIS, N.; LYTRAS, T.; ADAMOPOULOS, P. G.; PECCIA, J.; THOMPSON, D. C.; KONTOU, A.; KARAGIANNIDIS, A.; LIANIDOU, E. S.; AVGERIS, M.; PARASKEVIS, D.; TSIODRAS, S.; SCORILAS, A.; VASILIOU, V.; DIMOPOULOS, M. A.; THOMAIDIS, N. S. SARS-CoV-2 wastewater surveillance data can predict hospitalizations and ICU admissions. **Science of the Total Environment**, 804, 150151, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150151>.

HART, O. E.; HALDEN, R. U. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. **Science of The Total Environment**, v. 730, 138875, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138875.

HONG, P. Y.; RACHMADI, A. T.; MANTILLA-CALDERON, D.; ALKAHTANI, M.; BASHAWRI, Y. M.; QARNI, H. A.; O'REILLY, K. M.; ZHOU, J. Estimating the minimum number of SARS-CoV-2



infected cases needed to detect viral RNA in wastewater: To what extent of the outbreak can surveillance of wastewater tell us? **Environmental Research**, v. 195, 110748, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110748>.

HUISMAN, J. S.; SCIRE, J.; CADUFF, L.; FERNANDEZ-CASSI, X.; GANESANANDAMOORTHY, P.; KULL, A.; SCHEIDEGGER, A.; STACHLER, E.; BOEHM, A. B.; HUGHES, B.; KNUDSON, A.; TOPOL, A.; WIGGINTON, K. R.; WOLFE, M. K.; KOHN, T.; ORT, C.; STADLER, T.; JULIAN, T. R. Wastewater-based estimation of the effective reproductive number of SARS-CoV-2. medRxiv <https://doi.org/10.1101/2021.04.29.21255961>.

KAPLAN, E. H.; WANG, D.; WANG, M.; MALIK, A. A.; ZULLI, A.; PECCIA, J. Aligning SARS-CoV-2 indicators via an epidemic model: application to hospital admissions and RNA detection in sewage sludge. **Health Care Management Science**, 24, 320–329, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10729-020-09525-1>.

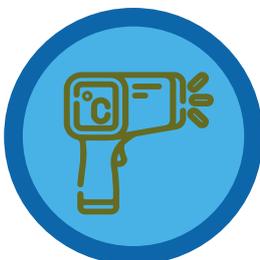
MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R.; BROUWER, A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. **Environmental Science & Technology Letters**, [acs.estlett.0c00357](https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357), 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>.

WÖLFEL, R.; CORMAN, V. M.; GUGGEMOS, W.; SEILMAIER, M.; ZANGE, S.; MÜLLER, M. A.; NIEMEYER, D.; JONES, T. C.; VOLLMAR, P.; ROTHE, C.; HOELSCHER, M.; BLEICKER, T.; BRÜNINK, S.; SCHNEIDER, J.; EHMANN, R.; ZWIRGLMAIER, K.; DROSTEN, C.; WENDTNER, C. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. **Nature**, 581(7809), 465–469, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>

Worldometers. COVID-19 coronavirus pandemic. Disponível em: <<https://www.worldometers.info/coronavirus/>>. Acessado em 20 de dezembro de 2021.

WU, F.; XIAO, A.; ZHANG, J.; MONIZ, K.; ENDO, N.; ARMAS, F.; BONNEAU, R.; BROWN, M. A.; BUSHMAN, M.; CHAI, P. R.; DUVALLET, C.; ERICKSON, T. B.; FOPPE, K.; GHAELI, N.; GU, X.; HANAGE, W. P.; HUANG, K. H.; LEE, W. L.; MATUS, M.; MCELROY, K. A.; NAGLER, J.; RHODE, S. F.; SANTILLANA, M.; TUCKER, J. A.; WUERTZ, S.; ZHAO, S.; THOMPSON, J.; ALM, E. J. SARS-CoV-2 RNA concentrations in wastewater foreshadow dynamics and clinical presentation of new COVID-19 cases. **Science of the Total Environment**, 805, 150121, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150121>.

YAO, M.; ZHANG, L.; MA, J.; ZHOU, L. On airborne transmission and control of SARS-CoV-2. **Science of The Total Environment**, v. 731, 139178, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139178>.



4

Monitoramento regionalizado do SARS-CoV-2 no esgoto

Grandes cidades como Belo Horizonte são bastante heterogêneas em termos demográficos, econômicos e sociais. Por esse motivo, além do monitoramento centralizado do SARS-CoV-2 nas grandes estações de tratamento de esgotos, é importante que o monitoramento regionalizado seja realizado, a fim de direcionar os recursos para aquelas regiões mais vulneráveis, que sofrem os maiores impactos da pandemia.

No Projeto Piloto Monitoramento COVID Esgotos foi colocado em prática um abrangente programa de monitoramento do esgoto para o SARS-CoV-2 em Belo Horizonte, desde abril de 2020, logo após a declaração da situação de pandemia, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), em março de 2020. O objetivo deste monitoramento regionalizado foi avaliar informações temporais e espaciais sobre as concentrações e cargas virais no esgoto de diferentes bairros de Belo Horizonte, com características distintas, a fim de auxiliar as autoridades locais na tomada de decisões.

4.1 Sub-bacias selecionadas para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte

Além das duas principais estações de tratamento de esgotos (ETEs Arrudas e Onça), em Belo Horizonte foram monitorados quinze pontos ao longo do sistema de esgoto, propositalmente escolhidos por receberem contribuições de regiões com diferentes índices de vulnerabilidade socioeconômica e de saúde. Sete dos quinze pontos estão localizados na sub-bacia do Ribeirão Arrudas e oito na sub-bacia do Ribeirão Onça.

Até onde se tem conhecimento, este foi o primeiro estudo a usar o monitoramento descentralizado do esgoto para avaliar a distribuição espacial da prevalência de COVID-19 em uma grande cidade.

Cada sub-bacia monitorada em Belo Horizonte é classificada por meio de um Índice de Vulnerabilidade em Saúde (IVS), que leva em consideração indicadores socioeconômicos (residentes por domicílio, taxa de analfabetismo, renda, cor da pele e etnia) e indicadores de saneamento (acesso a abastecimento de água adequado, esgotamento e coleta e destinação adequada de resíduos sólidos urbanos). O IVS é dividido em quatro classes (extremamente vulnerável, muito vulnerável, vulnerável e não vulnerável) de acordo com a Prefeitura Municipal de Belo Horizonte (PBH, 2018).

A Figura 4.1 apresenta os pontos de amostragem com os índices de vulnerabilidade em saúde para cada região amostrada. As características de cada interceptor onde foram coletadas as amostras foram disponibilizadas pela Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA), incluindo: o diâmetro e o comprimento do tubo, a declividade média e a vazão média do esgoto no ponto de amostragem. As velocidades do fluxo e o tempo de percurso do esgoto na rede foram calculados com base nas características de projeto (Tabela 4.1).

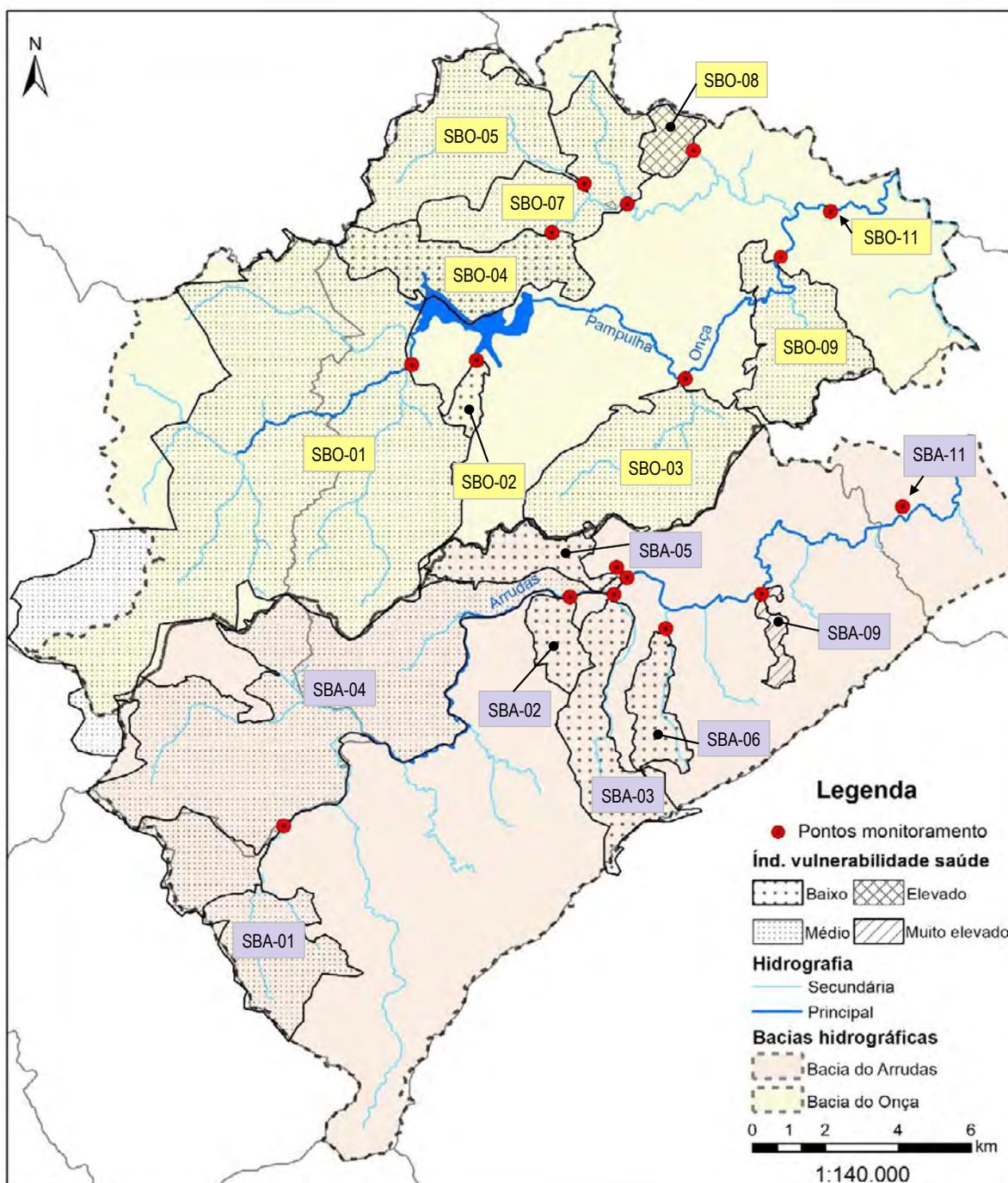
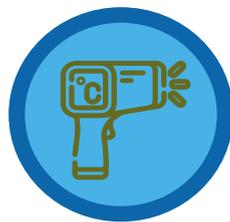


Figura 4.1 – Mapa mostrando sub-bacias e os índices de vulnerabilidade de cada região monitorada

Tabela 4.1 – Descrição, características de projeto dos interceptores amostrados e valores calculados para o tempo de percurso do esgoto na rede

SUB-BACIA	DESCRIÇÃO	POPULAÇÃO ATENDIDA (HABITANTES)	IVS	DIÂMETRO (MM)	DECLIVIDADE MÉDIA (M/M)	VAZÃO MÉDIA (L/S)	COMPRIMENTO (M)	VELOCIDADE DO FLUXO (M/S)	TEMPO DE PERCURSO DO ESGOTO (H)
SBO-01	Córrego Ressaca/Sarandi	486.488	Vulnerável	1500	0,0059	512,83	4000	1,9	0,58
SBO-02	Córrego Mergulhão/Tijuco	12.154	Não vulnerável	400	0,0053	16,06	1500	0,8	0,53
SBO-03	Córrego Cachoeirinha	190.130	Vulnerável	1200	0,0433	236,15	6000	3,1	0,54
SBO-04	Córrego Santa Amélia	71.592	Não vulnerável	400	0,0117	86,82	4000	1,6	0,68
SBO-05	Interceptor Vilarinho	136.085	Vulnerável	600	0,005	124,52	6200	1,3	1,31
SBO-07	Interceptor Vilarinho	290.208	Vulnerável	1000	0,005	298,06	8200	1,6	1,44
SBO-08	Córrego Terra Vermelha	13.812	Muito vulnerável	300	0,0278	12,4	1000	1,3	0,21
SBO-09	Córrego Gorduras	88.914	Vulnerável	500	0,0137	82,28	4500	1,7	0,75
SBO-11	Entrada da ETE Arrudas	1.360.532	-	1600	0,005	1691	27200	2,5	3,02
SBA-01	Córrego Jatobá	132.929	Vulnerável	700	0,009	127,44	5400	1,6	0,94
SBA-02	Córrego Pintos	46.893	Não vulnerável	600	0,0475	75,29	2000	2,6	0,22
SBA-03	Córrego Leitão	101.946	Não vulnerável	800	0,0193	168,31	7500	2,2	0,95
SBA-04	Ribeirão Arrudas (Margem Esquerda)	439.683	Vulnerável	1500	0,0038	460,68	16200	1,6	2,81
SBA-05	Córrego Pastinho	63.665	Não vulnerável	500	0,0375	71,05	4000	2,4	0,47
SBA-06	Córrego Acaba Mundo	78.362	Não vulnerável	1600	0,0281	116,52	4000	2,4	0,47
SBA-09	Córrego Cardoso	17.742	Extremamente vulnerável	400	0,0094	16,2	2700	1	0,77
SBA-11	Entrada da ETE Arrudas	1.423.449	-	1600	0,005	1904	28400	2,5	3,11

Neste capítulo serão apresentados os resultados de concentrações do SARS-CoV-2 para as sub-bacias monitoradas durante todo o período de monitoramento (abril de 2020 a março de 2021). Os procedimentos de coleta, preservação e transporte das amostras, bem como a quantificação do RNA do SARS-CoV-2 no esgoto dos pontos amostrados seguiram a metodologia descrita no Capítulo 2 – Planejamento do estudo e metodologia utilizada para a detecção e quantificação do SARS-CoV-2.

4.2 Evolução temporal das concentrações de SARS-CoV-2 nos esgotos das sub-bacias ao longo do tempo

A Figura 4.2 (a-d) apresenta as concentrações de SARS-CoV-2 para todo o período de monitoramento do Projeto Piloto (abril de 2020 a março de 2021). Adicionalmente, nos gráficos são apresentadas informações sobre as medidas para enfrentamento da pandemia, em termos dos níveis de isolamento social mantidos em Belo Horizonte, tomando como base os decretos municipais que dispõem sobre a suspensão ou sobre a retomada das atividades durante os períodos de restrição de circulação de pessoas (PBH, 2020).

Os dados de concentrações virais no esgoto das sub-bacias indicam que as regiões monitoradas apresentam dinâmicas epidemiológicas diferentes. É possível observar que houve grande variação na du-

ração dos picos e nas semanas em que ocorreram os picos das concentrações, assim como no número de picos entre as diferentes regiões de Belo Horizonte. As causas destas diferenças ainda precisam ser investigadas com maior nível de profundidade.

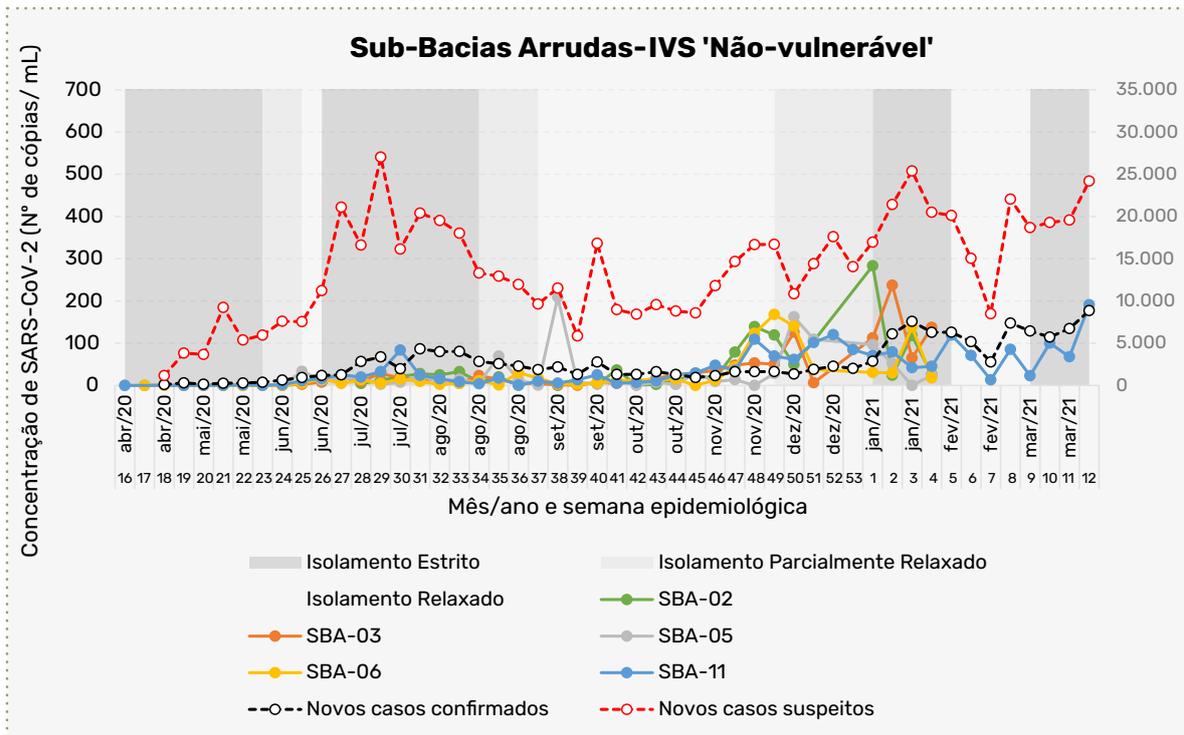
Embora as dinâmicas epidemiológicas tenham sido diferentes entre as sub-bacias monitoradas, é possível observar uma tendência de aumento das concentrações para a maioria das sub-bacias durante os períodos mais críticos da pandemia em Belo Horizonte. O primeiro período mais crítico em Belo Horizonte ocorreu de meados de junho a início de agosto de 2020 (semanas epidemiológicas 26 a 34 de 2020). Neste período, observou-se aumento nas concentrações de SARS-CoV-2 na maioria das sub-bacias dos Ribeirões Onça e Arrudas monitoradas, especialmente aquelas com elevados índices de vulnerabilidade em saúde (IVS vulnerável, muito vulnerável ou extremamente vulnerável). As concentrações virais elevadas encontradas nos esgotos coincidiram com o incremento do número de casos suspeitos e confirmados de COVID-19 em Belo Horizonte (Figura 4.2). Também coincidiram com situação crítica no sistema de saúde, com baixo número de leitos de UTI disponíveis destinados à pacientes com COVID-19 (PBH, 2021). Elevadas concentrações nas estações de tratamento de esgotos (ETEs) Arrudas e Onça (SBA-11 e SBO-11, respectivamente) também foram observadas neste período (Capítulo 3).

Outro período bastante crítico da pandemia de COVID-19 ocorreu entre o início de dezembro de 2020

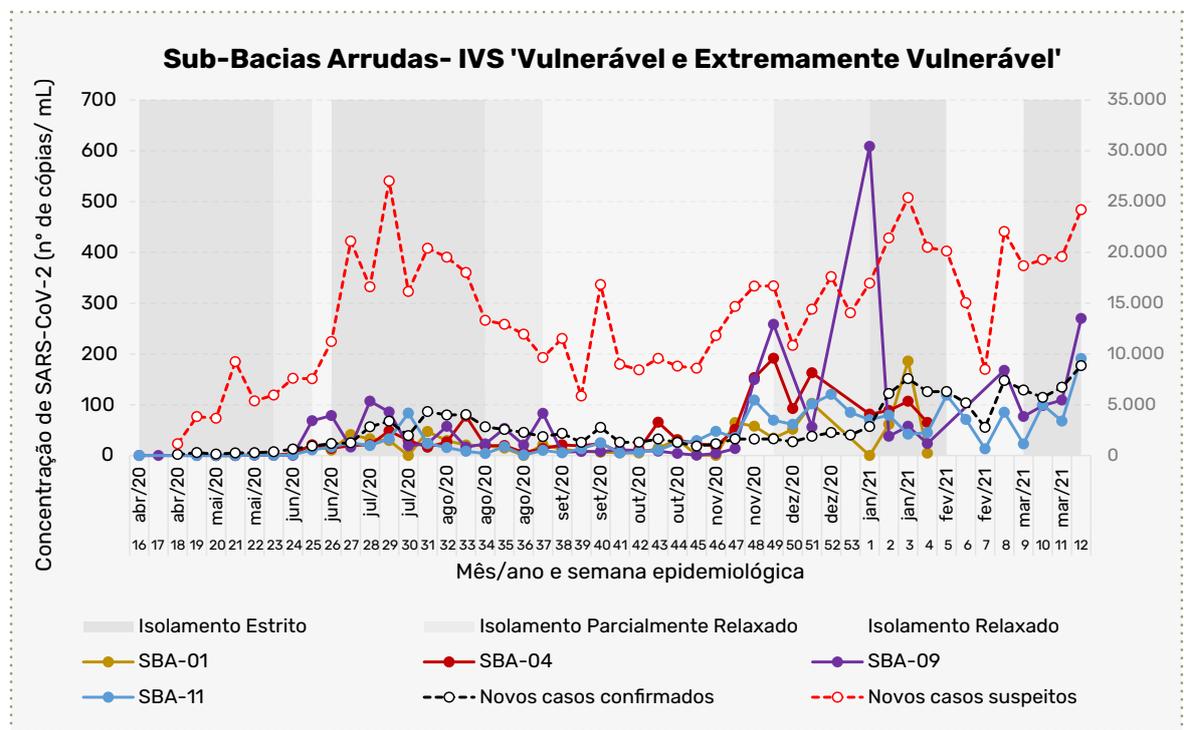
(semana epidemiológica 49/2020) até o início de fevereiro de 2021 (semana epidemiológica 5/2021). Neste período, foi possível observar picos de concentrações de SARS-CoV-2 bastante elevados em todas as sub-bacias dos Ribeirões Arrudas e Onça, assim como nas duas ETEs monitoradas. Destaca-se a sub-bacia SBA-09 (Interceptor Córrego Cardoso), sub-bacia do Ribeirão Arrudas, classificada com IVS 'Extremamente vulnerável', a qual registrou as concentrações mais elevadas, entre todos os pontos monitorados, na última semana de dezembro de 2020 (semana epidemiológica 53). Durante esse período, elevado número de novos casos de COVID-19 (suspeitos e confirmados) também foi registrado pela Prefeitura de Belo Horizonte. O sistema de saúde também foi bastante pressionado, com aumento da ocupação dos leitos de UTI e enfermarias por pacientes com COVID-19, e consequente redução do número de leitos livres para estes pacientes (PBH, 2021).

De maneira geral, observou-se que os picos das concentrações de SARS-CoV-2 no esgoto de Belo Horizonte sucedem os períodos em que houve relaxamento das medidas de isolamento social na cidade. Além disso, para algumas sub-bacias (a exemplo das SBA-09, SBA-04, SBO-05 e SBO-09, que possuem elevados índices de vulnerabilidade), as concentrações de SARS-CoV-2 aumentaram antes da situação se tornar mais crítica em Belo Horizonte, ou seja, as concentrações virais no esgoto foram capazes de fornecer um alerta para a situação epidemiológica que estava por vir.





a



b

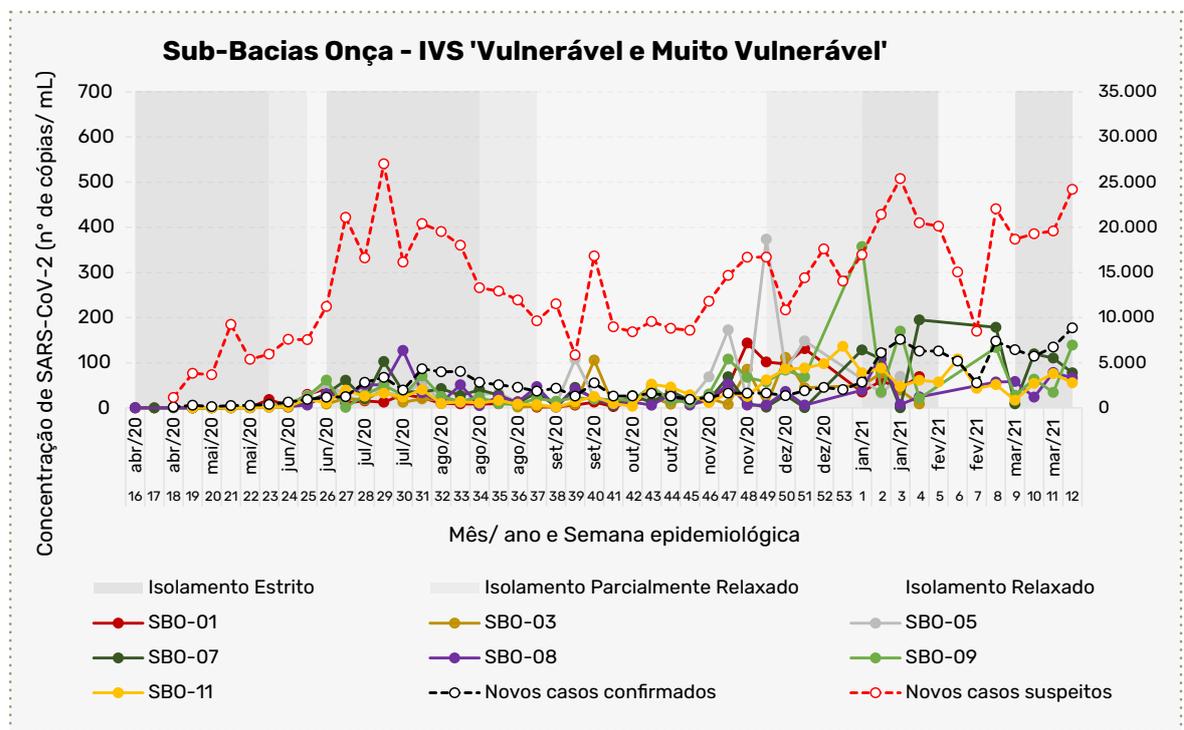
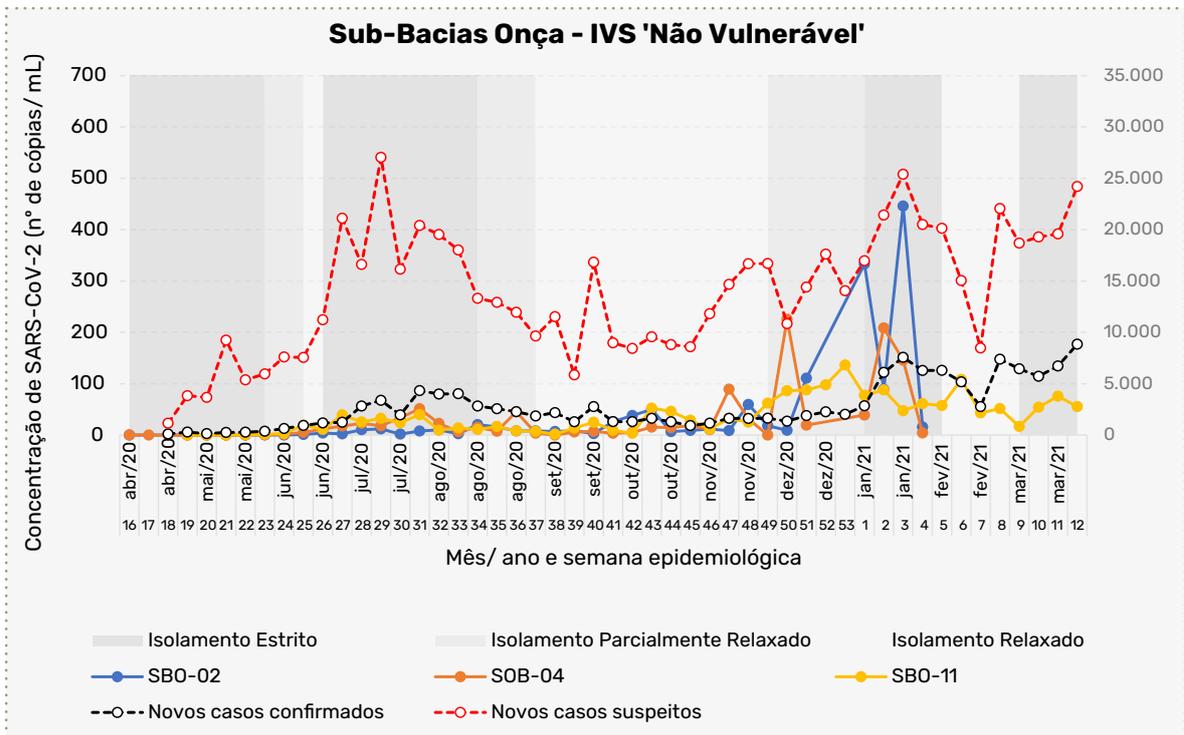


Figura 4.2 – Concentrações de SARS-CoV-2 no esgoto das sub-bacias monitoradas em Belo Horizonte em contraste com o número de novos casos confirmados e suspeitos de COVID-19 e as medidas de isolamento para enfrentamento da pandemia de COVID-19: (a) Sub-Bacias do Ribeirão Arrudas com IVS 'Não vulnerável'; (b) Sub-bacias do Ribeirão Arrudas com IVS 'Vulnerável' e 'Extremamente vulnerável'; (c) Sub-bacias do Ribeirão Onça com IVS 'Não Vulnerável'; e (d) Sub-bacias do Ribeirão Onça com IVS 'Vulnerável' e 'Muito vulnerável'.

4.3 Índice de Prevalência Relativa (IPR)

Além do monitoramento das concentrações virais em diferentes regiões de Belo Horizonte, foi proposto o Índice de Prevalência Relativa (IPR), desenvolvido com base nos dados de monitoramento do esgoto. O IPR é capaz de identificar os *hot spots*, ou seja, as regiões com situações epidemiológicas mais críticas, em que a prevalência de COVID-19 em cada sub-bacia de monitoramento é comparada à prevalência em toda a bacia de esgotamento monitorada. Essa metodologia, pode auxiliar no monitoramento regionalizado em grandes cidades como Belo Horizonte, fornecendo informações importantes, as quais podem contribuir para as tomadas de decisão no enfrentamento à pandemia.

O desenvolvimento do IPR levou em consideração diversos fatores, a saber: concentração do genoma do SARS-CoV-2 no esgoto, a massa fecal excretada por habitantes por dia, o número de cópias do genoma viral por grama de fezes e o volume de esgoto per capita produzido. Partindo-se do pressuposto

que a razão entre a carga viral nas fezes e o volume de esgoto gerado por habitante por dia é similar entre as regiões monitoradas e a bacia de esgotamento como um todo, pode-se rearranjar as variáveis mencionadas de forma que o IPR seja resultado de uma simples equação. Neste caso, basta-se dividir a concentração viral determinada para a sub-bacia pela concentração viral determinada para a bacia de esgotamento como um todo. Adicionalmente, foi considerado o decaimento viral que ocorre ao longo do trajeto do esgoto nos interceptores de cada sub-bacia monitorada para efetuar a correção das concentrações do SARS-CoV-2 determinadas em laboratório. Não obstante, a degradação do sinal viral ao longo da rede coletora de esgoto não ultrapassa um valor máximo de 2,5% entre todos os pontos de monitoramento do Projeto Piloto (Mota et al., 2021). A metodologia completa para o desenvolvimento deste índice pode ser encontrada no estudo desenvolvido por Mota et al. (2021). A equação simplificada para o cálculo do IPR é apresentada no Quadro 4.1.

Quadro 4.1 – Índice de Prevalência Relativa para as sub-bacias monitoradas no Projeto Piloto.

ÍNDICE DE PREVALÊNCIA RELATIVA (IPR)

$$IPR_{SB} = \frac{C_{SB}}{C_{ETE}}$$

IPR_{SB}: Índice de Prevalência Relativa da sub-bacia.

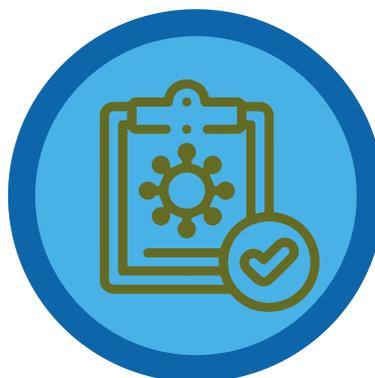
C_{SB}*: é a concentração viral determinada para cada sub-bacia monitorada (n° de cópias/ L) considerando o decaimento viral* nesta sub-bacia.

C_{ETE}: é a concentração viral determinada para a bacia de esgotamento como um todo, na qual a sub-bacia menor está inserida (correspondentes às ETEs monitoradas; n° de cópias/ L) considerando o decaimento viral nesta bacia.

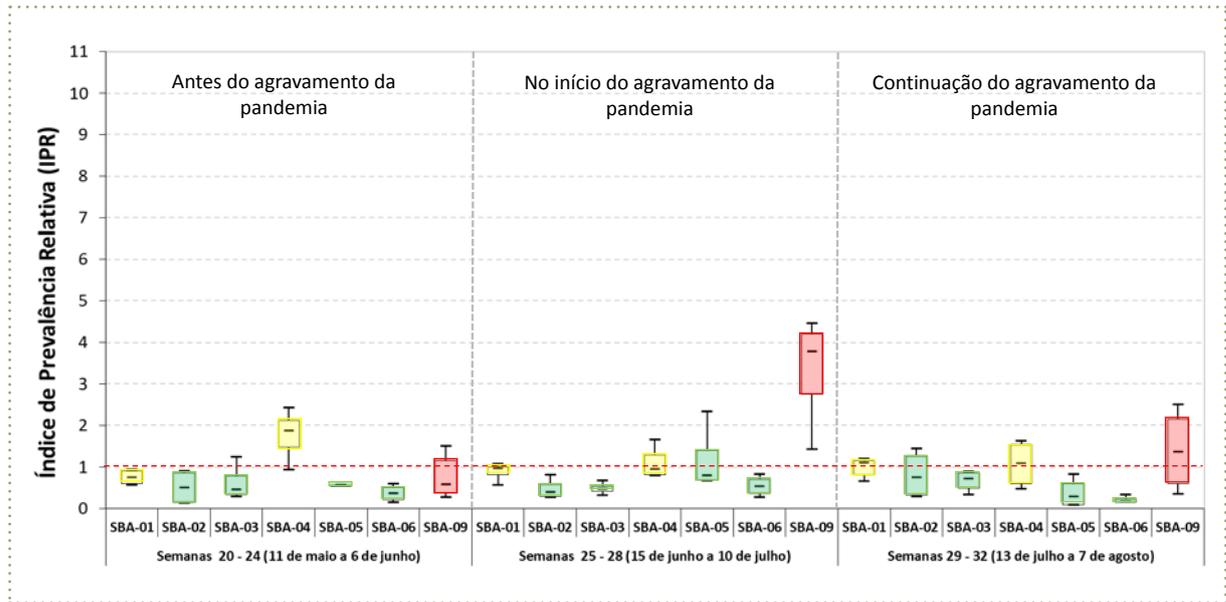
* Estimativa para o decaimento do SARS-CoV-2 nos interceptores de cada uma das regiões monitoradas foi determinada para as sub-bacias avaliadas no Projeto Piloto por Mota et al. (2021).

Fonte: Mota et al., 2021

Os valores do IPR foram determinados para as quinze sub-bacias monitoradas em Belo Horizonte (sete pontos localizados na sub-bacia do Ribeirão Arudas e oito pontos na sub-bacia do Ribeirão Onça) no referido estudo (Mota *et al.*, 2021). Nesse estudo, para o cálculo do IPR, foram considerados os resultados obtidos durante o período compreendido entre 11 de maio e 07 de agosto de 2020 (semanas epidemiológicas 20 a 32 de 2020), que foi subdividido em três períodos distintos, de acordo com a situação da pandemia: (i) antes do agravamento da pandemia (11 de maio a 06 de junho, semanas epidemiológicas 20 a 24); (ii) no início do agravamento da pandemia (15 de junho a 15 de julho, semanas epidemiológicas 25 a 28); e (iii) continuação do agravamento da pandemia (13 de julho a 07 de agosto, semanas epidemiológicas 29 a 32) (Figura 4.3).



a



b

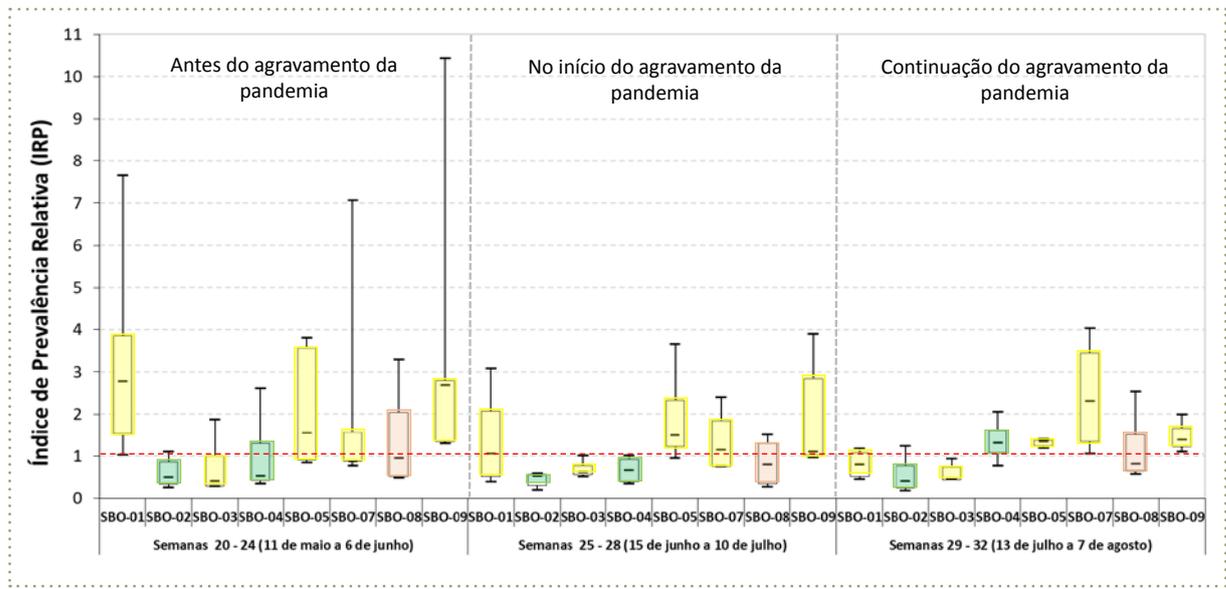


Figura 4.3 – IPR para as diferentes regiões de Belo Horizonte nos três períodos distintos da pandemia: (a) Sub-bacia do Ribeirão Arrudas e (b) Sub-bacia do Ribeirão Onça. A sub-bacia com IPR igual a 1 tem a prevalência de COVID-19 similar à bacia de esgotamento como um todo, na qual está inserida. O índice de vulnerabilidade em saúde (IVS) de cada região é indicado pelas cores: vermelho – extremamente vulnerável; laranja – muito vulnerável; amarelo – vulnerável; e verde – não vulnerável.

Os IPR calculados mostraram que as regiões mais vulneráveis foram as mais atingidas pela pandemia. As regiões mais vulneráveis são aquelas com elevados Índices de Vulnerabilidade em Saúde (IVS), caracterizadas pela presença de ocupações não planejadas, com famílias vivendo em habitações com condições precárias, em residências densamente povoadas, com acesso precário à saneamento, saúde e outros serviços públicos básicos.

Foi possível observar que as regiões mais vulneráveis nas sub-bacias do Ribeirão Arrudas (SBA-01, SBA-04 e SBA-09) e do Ribeirão Onça (SBO-01, SBO-05, SBO-07, SBO-08 e SBO-09) apresentaram

IPR persistentemente elevados. No período antes do agravamento da pandemia em Belo Horizonte (semanas epidemiológicas 20 a 24/2020), a mediana da prevalência de COVID-19 na região SBO-09 (Interceptor Córrego Gorduras) foi de aproximadamente três vezes a prevalência média da sub-bacia do Ribeirão Onça. No período compreendido entre as semanas epidemiológicas 25 a 28 de 2020, a prevalência de COVID-19 na região SBA-09 (Interceptor Córrego Cardoso) foi de aproximadamente quatro vezes a média da prevalência da doença na sub-bacia do Ribeirão Arrudas. Ambas estas regiões são classificadas como vulneráveis ou extremamente vulneráveis.

Regiões com baixo IVS foram menos afetadas pela pandemia (SBO-02, SBO-04, SBA-02, SBA-03, SBA-05 e SBA-06), apresentando IPR menores durante quase todo o período considerado no estudo. Os resultados encontrados neste estudo condizem com outros relatos científicos, em que regiões socioeconomicamente desfavorecidas têm sido desproporcionalmente afetadas pela pandemia de COVID-19 (Adhikari *et al.*, 2020; Wadhwa *et al.*, 2020; Bilal *et al.*, 2021; Ogedgbe *et al.*, 2021; Passos *et al.*, 2021).

Dentre os motivos pelos quais as regiões com maior índice de vulnerabilidade são mais afetadas pela pandemia é possível citar: (i) maior risco de exposição ao vírus (por exemplo, durante a utilização do transporte público, que pode estar superlotado, mesmo durante a pandemia); (ii) menor acesso a serviços de saneamento básico (como acesso à água potável e serviços de esgotamento sanitário); (iii) maior número de pessoas habitando em uma mesma residência; (iv) maior convivência na mesma residência com pessoas que trabalham em serviços essenciais; (v) maior carga de comorbidades nas populações mais vulneráveis; (vi) diminuição do acesso aos cuidados de saúde; (vii) dificuldades para a realização de testes para diagnóstico da COVID-19; entre outros fatores (Mota *et al.*, 2021).

4.4 Considerações finais

O monitoramento regionalizado do SARS-CoV-2 nos esgotos em diferentes regiões da cidade pode trazer informações relevantes para o combate à pandemia de COVID-19, especialmente em grandes e heterogêneos centros urbanos, como Belo Horizonte. Monitorar o esgoto de pequenas sub-bacias pode trazer informações importantes sobre a distribuição espacial e prevalência regional do vírus, informação que não é possível obter quando o monitoramento é realizado apenas nas grandes estações de tratamento de esgotos da cidade.

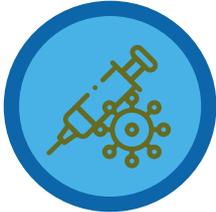
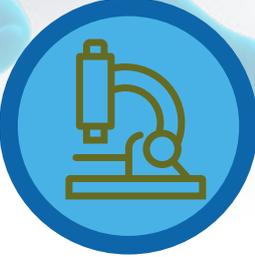
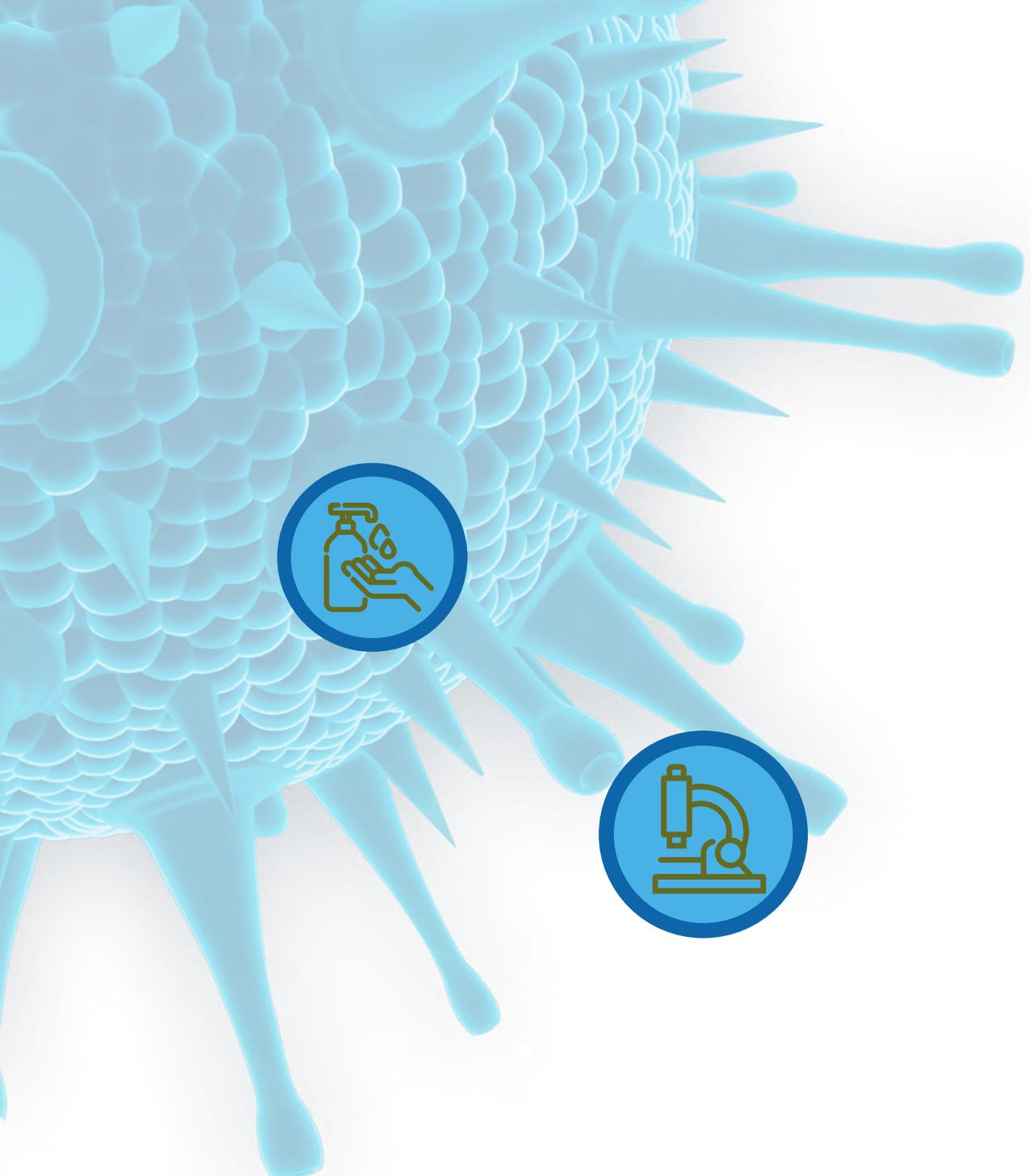
No âmbito do Projeto Piloto Monitoramento COVID Esgotos, quinze sub-bacias dos Ribeirões Onça e Arrudas foram avaliadas, além das duas principais ETEs que tratam os esgotos de Belo Horizonte (ETE Arrudas e ETE Onça). Foi possível observar grande heterogeneidade nos picos das concentrações de SARS-CoV-2 no esgoto nas diferentes sub-bacias ao longo de todo o período de monitoramento. Todavia, de maneira geral, as maiores concentrações virais na maioria das regiões avaliadas foram coincidentes com o aumento do número de casos de COVID-19 e também com o aumento da criticidade do sistema de saúde da cidade (em termos de número de leitos para pacientes com COVID-19).

Por meio do Índice de Prevalência Relativa (IPR) proposto em estudo realizado no decorrer do Projeto Piloto, foi possível identificar as regiões mais afetadas

pela pandemia de COVID-19, tomando como base os dados do monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto. O IPR avalia a prevalência regional em relação à prevalência no esgoto de toda comunidade (da bacia de esgotamento como um todo, na qual a sub-bacia está inserida). Com o IPR, foi possível identificar os hot spots durante diferentes períodos da pandemia de COVID-19, confirmando que, as regiões mais vulneráveis foram as mais afetadas pela COVID-19.

4.5 Referências

- ADHIKARI, S.; PANTALEO, N. P.; FELDMAN, J. M.; OGEDEGBE, O.; THORPE, L.; TROXEL, A. B. Assessment of Community-Level Disparities in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Infections and Deaths in Large US Metropolitan Areas. **JAMA Network Open**, 3(7), e2016938, 2020. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.16938>.
- BILAL, U.; TABB, L. P.; BARBER, S.; DIEZ ROUX, A. V. Spatial Inequities in COVID-19 Testing, Positivity, Confirmed Cases, and Mortality in 3 U.S. Cities: An Ecological Study. **Annals of Internal Medicine**, 174(7), 936-944, 2021. <https://doi.org/10.7326/M20-3936>.
- MOTA, C. R.; BRESSANI-RIBEIRO, T.; ARAÚJO, J. C.; LEAL, C. D.; LEROY-FREITAS, D.; MACHADO, E. C.; ESPINOSA, M. F.; FERNANDES, L.; LEÃO, T. L.; CHAMHUM-SILVA, L.; AZEVEDO, L.; MORANDI, T.; FREITAS, G. T. O.; COSTA, M. S.; CARVALHO, B. O.; REIS, M. T. P.; MELO, M. C.; AYRIMORAES S. R.; CHERNICHARO, C. A. L. Assessing spatial distribution of COVID-19 prevalence in Brazil using decentralised sewage monitoring. **Water Research**, v. 202, 117388. 2021. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117388.
- OGEDEGBE, G.; INOUYE, S. K. Injustice in Health: Now Is the Time to Change the Story. **Annals of Internal Medicine**, 174(7), 1012-1013, 2021. <https://doi.org/10.7326/M21-1279>.
- PASSOS, V.; BRANT, L.; PINHEIRO, P. C.; CORREA, P.; MACHADO, I. E.; SANTOS, M. R.; RIBEIRO, A.; PAIXÃO, L.; PIMENTA JUNIOR, F. G.; SOUZA, M.; MALTA, D. C. Higher mortality during the COVID-19 pandemic in socially vulnerable areas in Belo Horizonte: implications for vaccine prioritization. Maior mortalidade durante a pandemia de COVID-19 em áreas socialmente vulneráveis em Belo Horizonte: implicações para a priorização da vacinação. **Revista Brasileira de Epidemiologia = Brazilian Journal of Epidemiology**, 24, e210025, 2021. <https://doi.org/10.1590/1980-549720210025>.
- PBH – Prefeitura de Belo Horizonte, 2018. Índice de Vulnerabilidade em Saúde. Disponível em: <http://bhmap.pbh.gov.br/v2/mapa/idebhgeo>. Acesso em 23 de setembro de 2021.
- PBH – Prefeitura de Belo Horizonte, 2020. Boletins epidemiológicos e assistenciais. Disponível em: <https://prefeitura.pbh.gov.br/saude/coronavirus>. Acesso em 23 de setembro de 2021.
- WADHERA, R. K.; WADHERA, P.; GABA, P.; FIGUEROA, J. F.; JOYNT MADDOX, K. E.; YEH, R. W.; SHEN, C. Variation in COVID-19 Hospitalizations and Deaths Across New York City Boroughs. **JAMA**, 323(21), 2192-2195, 2020. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.7197>.



5

Contribuições específicas do projeto piloto para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto

Neste capítulo são apresentados temas específicos relativos ao monitoramento do vírus SARS-CoV-2, compreendendo aspectos metodológicos, referentes à amostragem e às análises moleculares para detecção do vírus, e o monitoramento do vírus em águas residuárias de locais estratégicos e em águas superficiais. Esses temas foram detalhadamente abordados na forma de boletins temáticos, listados a seguir, os quais foram publicados separadamente e estão disponíveis no site do INCT ETEs Sustentáveis e da ANA:

- Boletim Temático N° 2: Quantificação do material genético do novo coronavírus: sensibilidade dos ensaios moleculares e correlação das cargas virais com o número de casos de COVID-19

- Boletim Temático N° 5: Avaliação de amostragens simples e composta para o monitoramento do SARS-CoV-2 em esgotos
- Boletim Temático N° 4: Monitoramento do vírus SARS-CoV-2 em amostras de esgoto de locais com grande circulação de pessoas
- Boletim Temático N° 6: Monitoramento do SARS-CoV-2 em águas superficiais urbanas de Belo Horizonte como ferramenta epidemiológica para populações desprovidas de coleta e tratamento de esgotos

Os principais resultados e impactos da investigação de cada boletim são contemplados nos itens subsequentes.



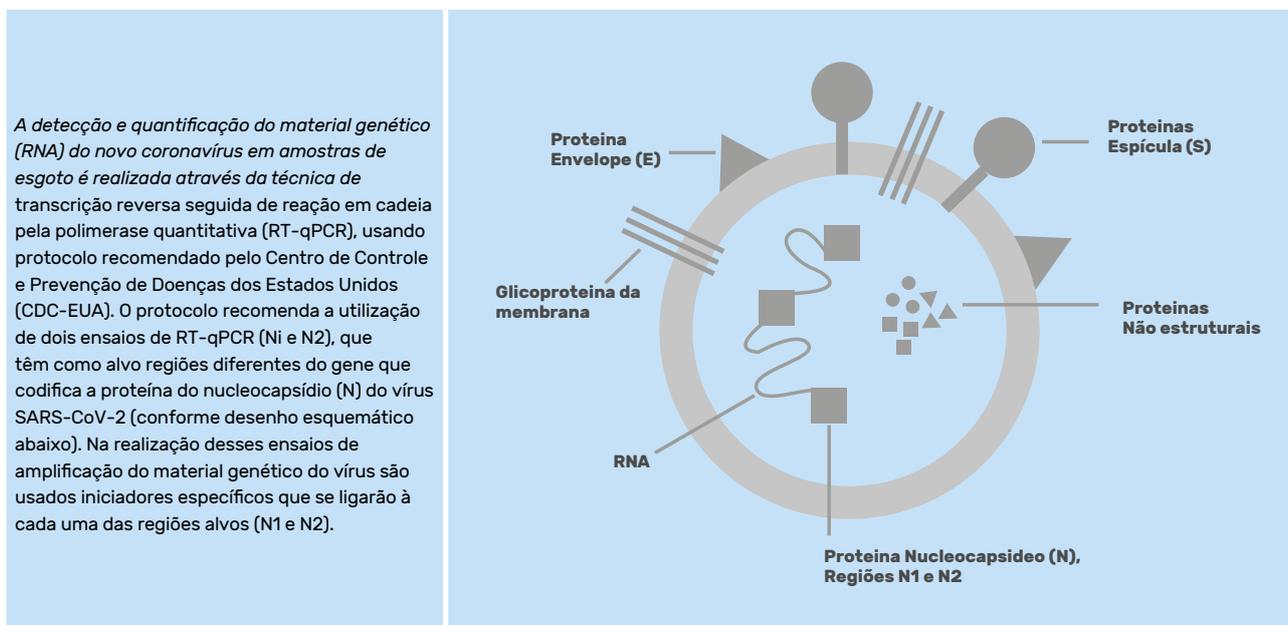
5.1 Quantificação do material genético do novo coronavírus: sensibilidade dos ensaios moleculares e correlação das cargas virais com o número de casos de COVID-19

As concentrações do material genético do novo coronavírus em amostras de esgoto coletadas na entrada das estações de tratamento de esgotos (ETEs) de Belo Horizonte (Arrudas e Onça) foram analisadas, considerando dois aspectos principais: (i) Detecção do material genético do novo coronavírus a partir de duas regiões-alvo do genoma do SARS-CoV-2 (regiões N1 e N2): avaliação da sensibilidade e padrão de resposta dos alvos; e ii) Correlação das cargas virais determinadas para as regiões genômicas N1 e N2 com o número de casos confirmados para a COVID-19 em Belo Horizonte, no período de 4 de maio a

03 de julho de 2020 (equivalente às semanas epidemiológicas 19 a 27 de 2020).

Como mencionado no Capítulo 2, a detecção e quantificação do RNA do SARS-CoV-2 no esgoto é realizada através da técnica de transcrição reversa seguida de reação em cadeia pela polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR), usando protocolo recomendado pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC-EUA) desenvolvido para amostras clínicas. O protocolo recomenda a utilização de dois ensaios de RT-qPCR (N1 e N2), que têm como alvo regiões diferentes do gene que codifica a proteína do nucleocapsídeo (N) do vírus SARS-CoV-2 (Quadro 5.1). Esses dois ensaios são sensíveis e específicos para o SARS-CoV-2 e indicados pelo CDC-EUA para o diagnóstico clínico. Os resultados são expressos em número de cópias do material genômico do vírus por mL de esgoto (cópias/mL).

Quadro 5.1 – Resumo da técnica de RT-qPCR para detecção do SARS-CoV-2



Devido ao rigor exigido para o uso da técnica de RT-qPCR aplicada ao diagnóstico clínico (Bustin *et al.* 2009), o resultado é considerado positivo para a presença do genoma do SARS-CoV-2 (confirmação da infecção) apenas quando ambos os ensaios (N1 e N2) amplificam o sinal genético ultrapassando o limiar de detecção antes de 40 ciclos da reação. Quando somente um dos alvos amplifica, ou isso ocorre após 40 ciclos, os resultados são considerados inconclusivos. No uso da técnica RT-qPCR em estudos com amostras ambientais (como esgoto ou água), os principais parâmetros que geram preocupação quanto aos métodos analíticos são a sensibilidade e especificidade dos ensaios, pois amostras ambientais costumam ter pequenas quantidades de material genômico viral e grande diversidade viral, em relação às amostras clínicas. A sensibilidade refere-se ao número mínimo de

cópias que pode ser medido com precisão em uma amostra, ou seja, o número mínimo de cópias amplificadas na reação e, conseqüentemente, a menor concentração que pode ser detectada na amostra em número de cópias por mL. Já a especificidade refere-se à capacidade do método de detectar a sequência alvo adequada em detrimento de outros alvos não específicos também presentes na amostra (por exemplo, os outros vírus presentes na amostra, que não o vírus SARS-CoV-2 causador da COVID-19, e que poderiam interferir no resultado). Destaca-se que ambos os alvos são 100% específicos para a detecção do SARS-CoV-2 (Nalla *et al.*, 2020).

No presente projeto foi adotada a estratégia de analisar todas as amostras usando ambos os ensaios (N1 e N2) em triplicatas técnicas. São considerados como resultados positivos aqueles em que ocorre a

amplificação de no mínimo duas réplicas. Como ainda há dúvidas sobre se alguma região alvo do genoma pode ser considerada melhor que a outra, foi realizada uma análise sobre as diferenças encontradas nos resultados obtidos com ambos os ensaios (N1 e N2). Os resultados são comparados com estudos internacionais e discutidos a seguir.

5.1.1 Concentrações do material genético viral (RNA) do SARS-CoV-2: explorando a sensibilidade de cada região alvo (N1 e N2)

As concentrações do RNA viral nas amostras de esgoto bruto afluente às ETEs Arrudas e Onça para cada um dos ensaios (N1 e N2), ao longo de nove semanas consecutivas de monitoramento (correspondentes às semanas epidemiológicas 19 a 27 de 2020) são primeiramente apresentados sob a forma de um gráfico box-plot na Figura 5.1. Nota-se que, apesar dos resultados para N1 e N2 guardarem certa similaridade em relação às faixas de concentração observadas, é nítido que concentrações menores foram

detectadas prioritariamente com o ensaio N1 (75% dos dados para N1 são superiores a 0,2 cópias/mL, ao passo que para N2, 75% dos dados são superiores a 2,0 cópias/mL).

Os valores medianos determinados para as ETEs Arrudas e Onça foram de 1,3 e 1,8 cópias/mL para o alvo N1, respectivamente, e de 7,5 e 4,8 cópias/mL para o alvo N2, respectivamente. Esses valores são maiores do que os reportados por Ahmed *et al.* (2020) (0,12 cópias/mL), para amostras de esgoto afluente a ETEs na Austrália, e menores do que os reportados por Wu *et al.* (2020) (10 a 100 cópias/mL) e por Randazzo *et al.* (2020) (553 cópias/mL para o alvo N2), para amostras de esgoto afluente a ETEs nos Estados Unidos e Espanha, respectivamente. A título de comparação, a concentração reportada de vírus entéricos humanos determinada em esgoto tem sido da ordem de 10^3 cópias/mL (Bisseux *et al.*, 2018). No Brasil, as concentrações dos vírus entéricos como adenovírus e poliomavírus variam entre 10^2 e 10^3 cópias/mL, enquanto norovírus varia entre 1 e 10 cópias/mL (Fumian *et al.*, 2013).

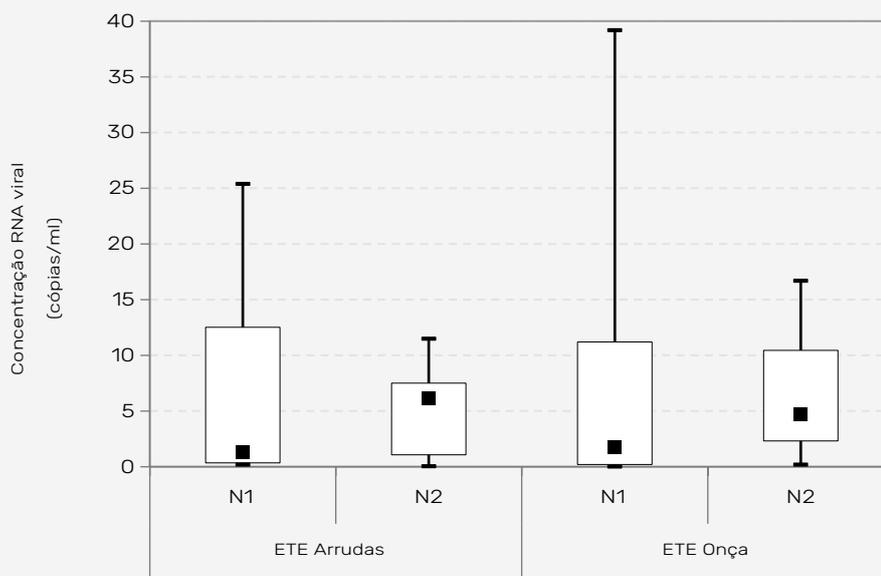


Figura 5.1 – Box-plot das concentrações do RNA viral (SARS-CoV-2) determinadas no esgoto afluente às ETEs Arrudas e Onça, para os alvos N1 e N2. Os resultados são referentes às amostras coletadas em 9 semanas consecutivas de monitoramento, correspondentes às semanas epidemiológicas 19 a 27 de 2020.

Uma avaliação mais detalhada em relação à sensibilidade dos alvos é realizada por meio da análise da Figura 5.2, em que os mesmos resultados anteriormente representados sob a forma de gráfico box-plot (Figura 5.1) são apresentados ao longo de cada campanha de monitoramento efetuada. Apesar do limite de detecção (determinado com a curva padrão elaborada a partir da diluição do controle positivo) ter sido igual a 2 cópias por μ L de reação de RT-qPCR

para ambos os alvos (N1 e N2), verificou-se que o limite de quantificação observado (ou seja, a menor concentração do RNA viral determinada na amostra de esgoto) foi de 0,03 e 0,06 cópias/mL para N1 e N2, respectivamente.

Na figura 5.2a, observa-se que o alvo N1 apresentou resultado positivo de amplificação em concentrações muito baixas (0,03 cópias/mL) na semana 21, quando comparado com N2. Adicionalmente, a resposta

para o N2 foi negativa (não detecção) para a amostra da semana epidemiológica 19 referente ao afluente à ETE Onça (Figura 5.1.2a), ao passo que para N1 houve amplificação (0,07 cópias/mL). Não obstante, para o esgoto afluente à ETE Arrudas, a amostra referente à semana epidemiológica 19 foi positiva para N2, mas negativa para N1. Ainda para o esgoto afluente à ETE Arrudas, o alvo N2 apresentou resultado positivo de amplificação em concentrações também muito baixas na semana 21 (0,06 cópias/mL) (Figura

5.2b). Portanto, nota-se que o comportamento entre os alvos foi variável e nem sempre a tendência de aumento observada para N1 ocorreu para N2 (Figura 5.2a e 5.2b). Adicionalmente, quando a concentração reduziu para N1, verificou-se que o decréscimo para N2 não aconteceu na mesma proporção (Figura 5.2b). Em suma, a tendência de aumento ou de redução de concentração determinada para cada alvo não seguiu a mesma proporção, indicando padrão variável de amplificação dos alvos.

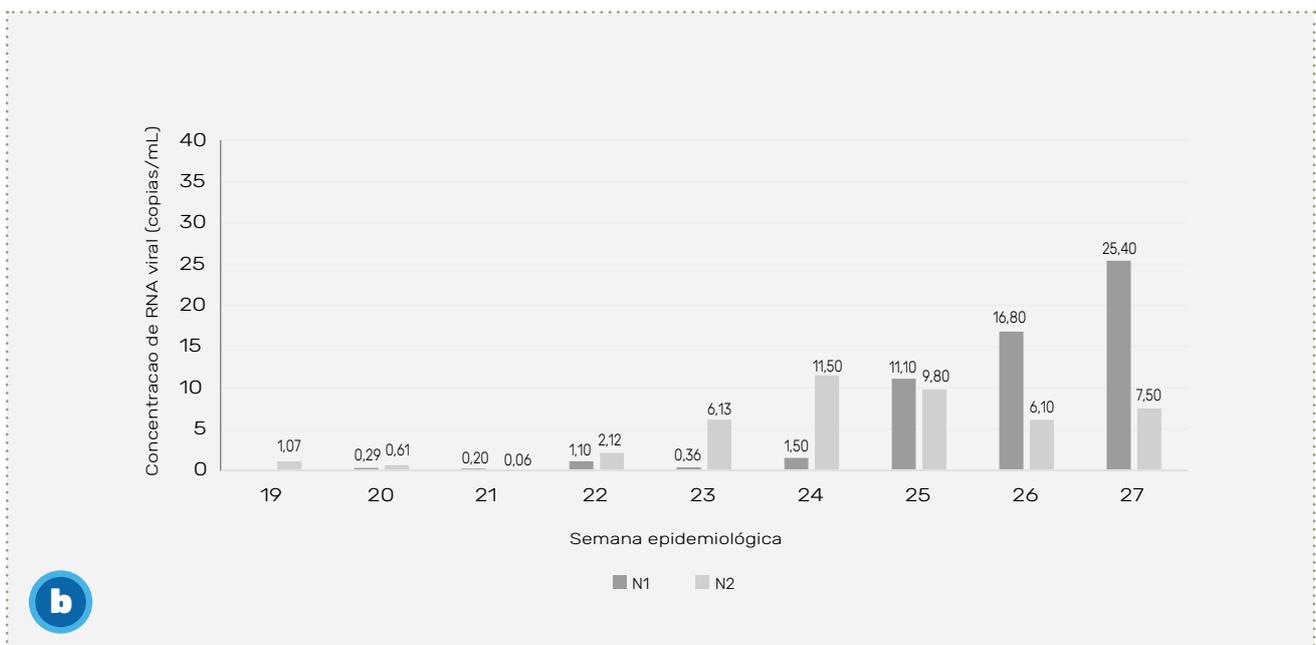
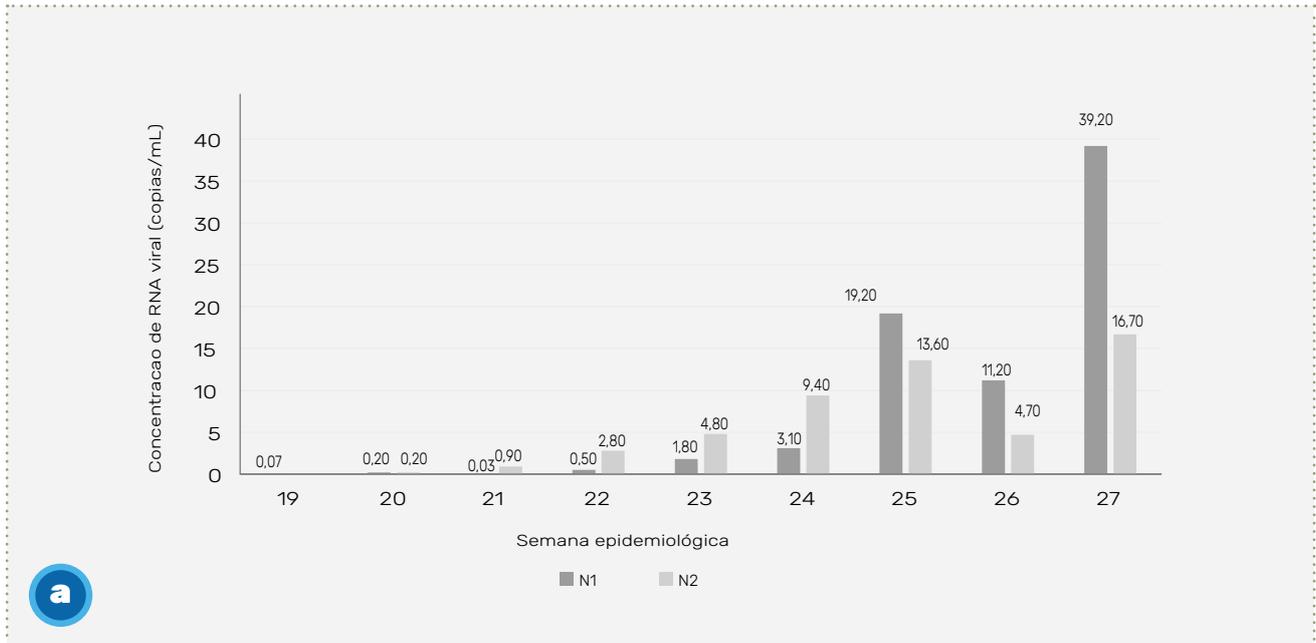


Figura 5.2 – Evolução temporal das concentrações do RNA viral (SARS-CoV-2) para as regiões alvo (N1 e N2) determinadas no esgoto afluente às ETEs Onça (a) e Arrudas (b). Os resultados são referentes às amostras coletadas em 09 semanas consecutivas de monitoramento, correspondentes às semanas epidemiológicas 19 a 27 de 2020.

Entretanto, ressalta-se que o alvo N1 apresentou frequência de detecção maior ou igual em relação ao N2. Na Tabela 5.1 são apresentados os percentuais das amostras de esgoto afluente às ETEs que testaram positivo para cada alvo (N1 e N2).

Tabela 5.1 - Percentual de amostras de esgoto bruto afluente às ETEs Arrudas e Onça que testaram positivo para o RNA do novo coronavírus com cada uma das regiões alvo (N1 e N2) (total de 09 amostras - semanas epidemiológicas 19 a 27 de 2020)

AFLUENTE ETE ARRUDAS		AFLUENTE ETE ONÇA	
N1	N2	N1	N2
88,8%	88,8%	100%	88,8%

Quando se expande a análise para o conjunto das amostras de esgoto coletadas nas 15 sub-bacias de esgotamento monitoradas, considerando as semanas epidemiológicas 16 a 27 de 2020 (12 semanas de monitoramento) (Figura 5.3), verifica-se que maior frequência de detecção também foi observada para o alvo N1, especificamente nas oito semanas iniciais de monitoramento (semanas epidemiológicas 16 a 23). Nas semanas seguintes (semanas epidemiológicas 24 a 27), a frequência de detecção foi de 100% para ambas as regiões alvos (N1 e N2). Destaca-se a semana epidemiológica 17, na qual houve detecção do material genético do novo coronavírus somente com o ensaio N1.

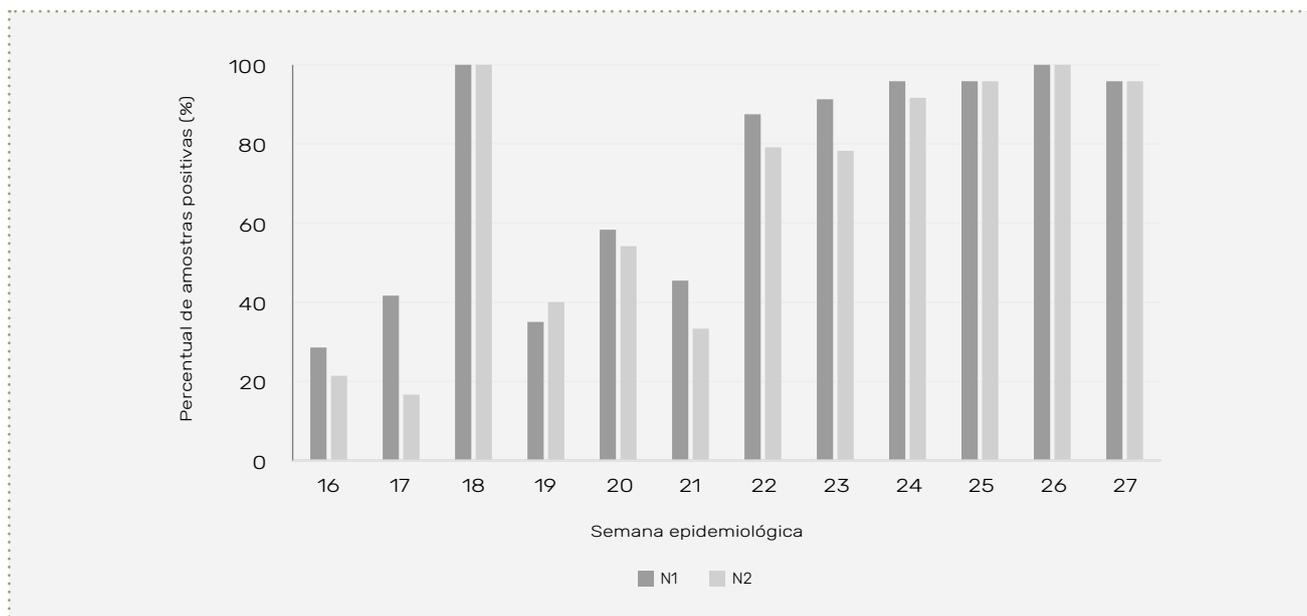


Figura 5.3 - Frequência de detecção (%) do RNA do novo coronavírus para cada um dos ensaios (N1 e N2) por semana epidemiológica considerando o conjunto das amostras das 15 sub-bacias de esgotamento desde o início do monitoramento (a partir da semana epidemiológica 16 de 2020).

Em conjunto, os resultados apresentados neste trabalho sugerem que o alvo N1 foi mais sensível que o N2, detectando concentrações mais baixas de material genético viral, maior frequência de detecção e apresentando padrão de resposta mais consistente ao longo do tempo.

As diferenças nos resultados dos alvos N1 e N2 provavelmente ocorrem porque diferentes ensaios de RT-qPCR não são igualmente suscetíveis à inibição da reação por substâncias que são co-purificadas nos extratos de ácidos nucleicos (Bustin *et al.* 2009). Tais

diferenças têm sido relatadas em alguns estudos que também realizaram a detecção e quantificação do material genético do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto usando os alvos N1 e N2 (Wu *et al.*, 2020; Randazzo *et al.*, 2020; Nemudryi *et al.*, 2020). Portanto, é provável que um dos alvos (N1 ou N2) seja mais adequado dependendo de um conjunto de condições, incluindo a composição do esgoto, a qualidade do material genético extraído e os diferentes tipos e marcas de reagentes utilizados nas reações de RT-PCR. Assim, é recomendável que cada cidade realize testes com ambos os alvos, usando os mesmos reagentes de RT-PCR, a fim de identificar o alvo mais adequado à composição do esgoto local. Medema *et al.* (2020) reportaram que o alvo N1 seria mais sensível em relação ao N2, pois foi verificado resultado positivo somente para N1 na amostra de esgoto quando o número de casos reportados de COVID-19 era de 1 em 100.000 habitantes. Em contrapartida, Nalla *et al.* (2020) reportaram que a região alvo N2 seria mais sensível do que as outras.

Portanto, ainda que não exista consenso na literatura sobre qual região alvo seria a mais adequada para a determinação da presença e quantificação do material genético do SARS-CoV-2, os resultados no âmbito do presente projeto sugerem que o alvo N1 é mais adequado para avaliação das amostras de esgoto de Belo Horizonte e Contagem.

5.1.2 Correlação da carga viral (cópias do RNA do novo coronavírus/ dia) e do número de novos casos semanais de COVID-19 em Belo Horizonte

Na Figura 5.4 são apresentados os gráficos de dispersão para os dados de carga viral total determinada no esgoto bruto afluente às ETEs, considerando os alvos N1 e N2, juntamente com os novos casos confirmados (Figuras 5.4a e 5.4b) e novos casos suspeitos (Figuras 5.4c e 5.4d) de COVID-19 para cada uma das semanas epidemiológicas analisadas (semanas 19 a 27). Nota-se que apenas para o alvo N1 houve correlação positiva significativa entre o incremento das cargas virais e o aumento do número de casos suspeitos e confirmados a cada semana epidemiológica reportados pela Prefeitura Municipal de Belo Horizonte (PBH).

O valor do coeficiente de determinação (R^2) entre as variáveis foi superior a 0,86 (o que corresponde a um coeficiente de correlação (ρ) superior a 0,93) para o alvo N1, ao passo que para N2 foi inferior a 0,6. (coeficiente de correlação $\rho \leq 0,77$). Weidhaas *et al.* (2020) também reportaram elevados coeficientes de correla-

ção ($\rho = 0,82$ e $0,96$) entre as cargas de RNA viral *per capita* determinadas no esgoto afluente de duas ETEs e o número de casos de COVID-19 por semana (em 100 mil habitantes). Verificaram ainda elevado coeficiente de determinação ($R^2 = 0,81$) para a relação entre o número estimado de indivíduos infectados (baseado na carga viral do esgoto) em cada bacia de esgotamento sanitário analisada e o número de casos confirmados acumulados de COVID-19 na mesma região.

Diferentemente do reportado por Medema *et al.* (2020), que comparou a concentração do RNA viral do SARS-CoV-2 detectado no esgoto com os casos acumulados reportados de COVID-19 nas quatro semanas que precederam a amostragem do esgoto, a presente avaliação considerou a soma das cargas virais afluente às ETEs Arrudas e Onça com o total de novos casos suspeitos ou novos casos confirmados por semana em Belo Horizonte. Para que concentrações possam ser utilizadas ao invés de cargas virais, os casos confirmados reportados devem necessariamente ser regionalizados. Todavia, pode-se afirmar que os incrementos de carga viral detectados para ambos os alvos (N1 e N2) referem-se exclusivamente a incrementos de concentração viral, visto que as vazões ao longo do período analisado não sofreram alterações significativas.

Os resultados apresentados na Figura 5.4 sugerem que as alterações de concentração do RNA viral (e consequentemente, de cargas virais) presentes no esgoto bruto afluente às ETEs no transcurso do tempo são uma ferramenta sensível de monitoramento para caracteri-



COOPASA

zar a circulação do vírus na população. O limite teórico de sensibilidade do monitoramento do esgoto como ferramenta de vigilância epidemiológica associa-se a um limite inferior de prevalência de COVID-19 da ordem de 0,005% (ou seja, um indivíduo infectado pode ser detectado em até 2.000.000 de pessoas) (Hart e Halden, 2020). Interessante notar que, ainda que relativamente baixo o número de casos confirmados (acumulados) reportados até a semana epidemiológica 19 de 2020 (857 casos – prevalência de 0,03%), a técnica empregada no presente estudo foi capaz de detectar o sinal genético, tanto para N1 quanto para N2. Entretanto, sabe-se que

o registro de casos confirmados sofre sérias limitações metodológicas, associadas ao dia de amostragem no paciente, amostragem realizada de maneira equivocada e, principalmente, ao número extremamente baixo de testagens clínicas (em torno de 7.200 testes a cada 100.000 habitantes no caso da área deste estudo). Adicionalmente, os testes clínicos são tipicamente direcionados aos indivíduos que manifestam sintomas mais severos da doença, enquanto o monitoramento epidemiológico baseado no esgoto detecta as partículas virais excretadas por pessoas infectadas tanto sintomáticas quanto assintomáticas.

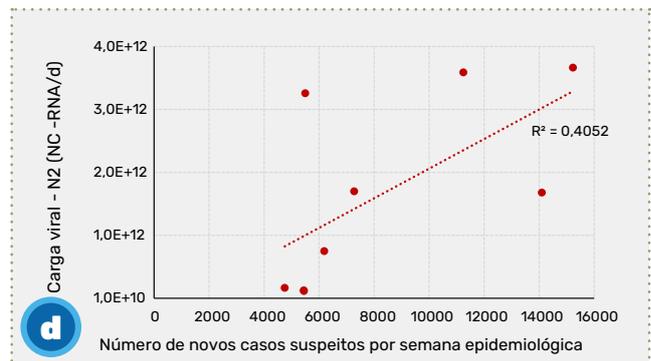
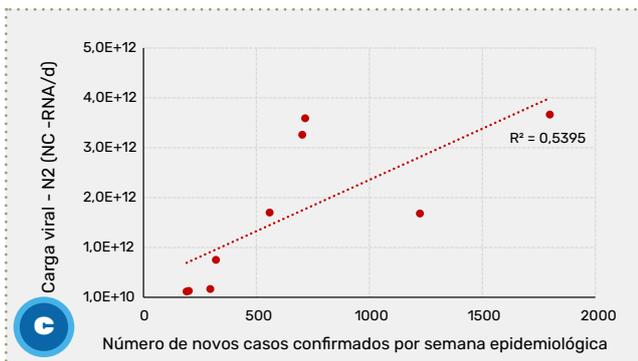
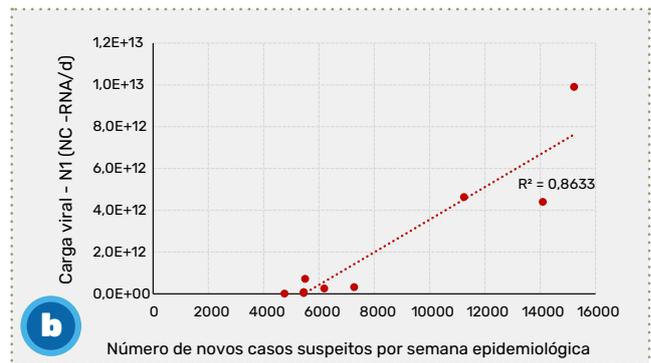
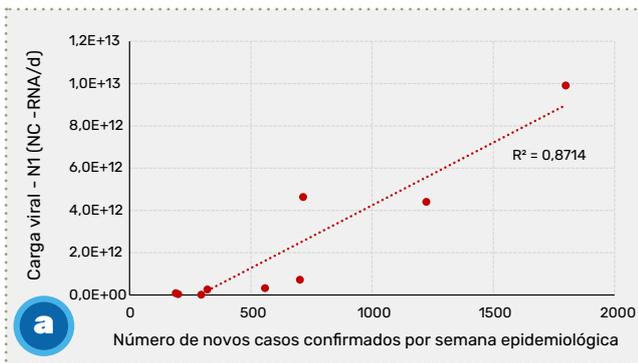


Figura 5.4 – Correlação (gráfico de dispersão) da carga de RNA (número de cópias por dia) do SARS-CoV-2 no esgoto bruto afluente às ETEs Arrudas e Onça para o alvo N1 e do número de novos casos confirmados (a) e novos casos suspeitos (b) de COVID-19 por semana em Belo Horizonte. Correlação da carga de RNA do SARS-CoV-2 no esgoto bruto afluente às ETEs Arrudas e Onça para o alvo N2 e do número de novos casos confirmados (c) e novos casos suspeitos* (d) de COVID-19 por semana em Belo Horizonte. Período de referência: semanas epidemiológicas 19 a 27 (entre 4 de maio e 03 de julho/2020). * Esses dados se referem aos casos suspeitos (Síndrome Gripal + Síndrome Respiratória Aguda Grave com suspeita de COVID-19) reportados no boletim epidemiológico da PBH.

Cabe citar que as cargas virais detectadas no esgoto implicam uma prevalência de COVID-19 sobremaneira mais elevada (0,03% a 24,1% baseada em N1; semanas epidemiológicas 19 a 27 de 2020) do que aquela calculada a partir dos dados de casos confirmados da PBH (0,03% a 0,24%; para o mesmo período). Todavia, é de natureza complexa uma comparação absoluta da prevalência determinada a partir dos casos clínicos confirmados reportados e aquela estimada a partir do monitoramento da concentração do RNA viral no esgoto, quer seja por

N1 ou N2, visto que a primeira depende principalmente da quantidade e tipo de testes clínicos realizados, os quais sofrem severas limitações como reportado anteriormente. Nesse sentido, ressalta-se a importância dos resultados da Figura 5.4, em que, efetivamente, pode-se notar que o monitoramento do esgoto é uma importante ferramenta de vigilância epidemiológica para acompanhar a tendência de prevalência de COVID-19 em determinada região (neste caso Belo Horizonte).

5.1.3 Conclusões

- A determinação da concentração viral no esgoto se mostrou mais adequada quando obtida com o alvo N1, tanto pela maior sensibilidade quanto pelo padrão consistente de resposta deste alvo ao longo do tempo.
- Observou-se correlação elevada (ρ superior a 0,93) das cargas virais determinadas com o ensaio N1 e o número de novos casos confirmados e novos casos suspeitos de COVID-19 reportados a cada semana epidemiológica. O mesmo não foi verificado para o ensaio N2 (ρ em torno de 0,71). A correlação elevada indica que a tendência de aumento das cargas virais determinadas no esgoto aconteceu concomitantemente com o aumento do número de casos de COVID-19 reportados, demonstrando que o monitoramento do esgoto pode ser usado como ferramenta epidemiológica.
- Os resultados confirmam que o monitoramento da carga viral no esgoto é uma ferramenta sensível de detecção da circulação do vírus em uma comunidade; e, portanto, o monitoramento do esgoto representa uma ferramenta complementar e importante de vigilância epidemiológica da COVID-19.

5.1.4 Referências

- AHMED W.; ANGEL N.; EDSON J.; BIBBY K.; BIVINS A.; O'BRIEN J. W.; CHOI P. M.; KITAJIMA M.; SIMPSON S. L.; LI, J., TSCHARKE, B.; VERHAGEN, R.; SMITH, W. J. M.; ZAUGG, J., DIERENS, L.; HUGENHOLTZ, P.; THOMAS, K. V.; MUELLER, J. F. 2020a First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. **Science of the Total Environment**, 728 (138764), 1-8. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.138764
- BISSEUX M.; COLOMBET J.; MIRAND A.; ROQUE-AFONSO A-M.; ABRAVANEL F.; IZOPET J., *et al.* Monitoring human enteric viruses in wastewater and relevance to infections encountered in the clinical setting: a oneyear experiment in central France, 2014 to 2015. Vol. 23. **Eurosurveillance**. 2018. p. 1700237.
- BUSTIN, S. A.; BENES, V.; GARSON, J. A.; HELLEMANS, J.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MUELLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFL, M. W.; SHIPLEY, G.L.; VANDESOMPELE, J.; WITWER, C. T. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. **Clinical Chemistry**, v. 55, p. 611-622, 2009. doi:10.1373/clinchem.2008.112797
- CDC - Center for Disease Control and Prevention. 2019-Novel coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR panel primers and probes. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>
- FUMIAN, T. M.; VIEIRA, C. B.; LEITE, J. P. G.; MIAGOSTOVICH, M. P. Assessment of burden of virus agents in an urban sewage treatment plant in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Water and Health**, v. 11, n. 1, p. 110-119, 2013.
- HART, O. E.; HALDEN, R. U. Computational analysis of SARS-CoV-2/ COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. **Science of the Total Environment**, 730, 138875, 2020.
- MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R. 2020. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. **Environ. Sci. Technol. Lett.** <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>.
- NALLA A. K.; CASTO A. M.; HUANG M. W.; PERCHETTI G. A.; SAMPOLEO, R.; SHRESTHA, L.; WEI, Y.; ZHU, H.; JEROME, K.; GRENINGER, A. L. 2020 Comparative performance of SARS-CoV-2 detection assays using seven different primer/probe sets and one assay kit. **J Clin Microbiol.** JCM.00557-20. DOI: 10.1128/JCM.00557-20
- NEMUDRYI, A.; NEMUDRAIA, A.; SURYA K.; WIEGAND T.; BUYUKYORUK M.; WILKINSON, R.; WIEDENHELFT, B. 2020. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. <https://doi.org/10.1101/2020.04.15.20066746>.
- RANDAZZO, W.; TRUCHADO, P.; CUEVAS-FERRANDO, E.; SIMÓN, P.; ALLENDE, A.; SÁNCHEZ, G. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. **Water Research**, 181, 115942, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942>.
- WEIDHAAS, J.; AANDERUD, Z.; ROPER, D. K.; VAN DER SLICE J.; GADDIS E. B.; OSTERMILLER J.; HOFFMAN, K.; JAMAL R.; HECK P.; ZHANG Y.; TORGERSEN K.; VANDER LAAN, V.; LA CROSS N. Correlation of SARS-CoV-2 RNA in wastewater with COVID-19 disease burden in sewersheds. Pre Print from **Research Square**, 14 Jul 2020. doi: 10.21203/rs.3.rs-40452/v1. PPR: PPR187805.
- WU, F.; ZHANG, J.; XIAO, A.; GU, X.; LEE, W. L.; ARMAS, F.; KAUFFMAN, K.; HANAGE, W.; MATUS, M.; GHAELI, N.; ENDO, N.; DUVALLET, C.; POYET, M.; MONIZ, K.; WASHBURN, A. D.; ERICKSON, T. B.; CHAI, P. R.; THOMPSON, J.; ALM, E. J. SARS-CoV-2 Titers in Wastewater Are Higher than Expected from Clinically Confirmed Cases. **mSystems**, 5(4), e00614-20, 2020. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00614-20>.

5.2 Avaliação de amostragens simples e composta para o monitoramento do SARS-CoV-2 em esgotos

A vigilância ambiental do SARS-CoV-2 por meio de sua detecção no esgoto é bastante útil e traz informações valiosas sobre a circulação deste vírus em uma determinada região. Entretanto, ainda existem dúvidas sobre como deve ser realizada a coleta da amostra, para que as concentrações de SARS-CoV-2 no esgoto sejam representativas da circulação do vírus na população. Tendo em vista que as vazões fluem continuamente nas redes de esgotamento sanitário, é importante compreender se essas variações de vazão correspondem também a variações consideráveis nas concentrações de SARS-CoV-2.

A amostragem composta, em um período de 24 horas, é considerada o tipo de amostragem mais desejável, pois pode incluir excretas eliminadas em momentos diversos do dia, resultando em amostras mais representativas da população. Este tipo de amostragem é comumente realizado em ETEs de médio a grande porte, frequentemente com o uso de amostradores automáticos. Porém, a realização de amostragem composta, por longos períodos (maior que 4 horas) torna-se impraticável, seja manualmente ou com o uso de amostradores automáticos, quando realizada fora da ETE, ou seja, em coletores, interceptores, canais ou estações elevatórias localizados em áreas públicas.

Em tais situações, o risco de furto do equipamento e o custo de mão de obra podem ser muito elevados. Assim, surgem algumas questões: (i) a amostragem simples é adequada para monitorar as concentrações do SARS-CoV-2 no esgoto ou é necessária a realização de amostragem composta? (ii) A amostragem composta é representativa se for realizada apenas durante um período do dia (p. ex.: pela manhã ou pela tarde)? (iii) No caso de a amostra simples ser adequada, existe um melhor horário do dia para se proceder a amostragem do esgoto?

O plano de amostragem e a coleta de amostras para a detecção do SARS-CoV-2 no esgoto devem levar em consideração alguns fatores, como por exemplo, o objetivo do monitoramento, a segurança do trabalhador envolvido na coleta, a metodologia adotada para a coleta, preservação e o transporte da amostra. Tais assuntos foram abordados com mais detalhes no Capítulo 2 deste Atlas.

No que diz respeito à metodologia adotada para a coleta, cabe aqui salientar os tipos de amostragem (simples ou composta) que podem ser utilizados. A amostragem composta pode ser realizada por meio de amostrador automático ou manualmente. O emprego de amostradores automáticos está associado a uma série de vantagens, como por exemplo, maior

segurança para o operador, maior confiabilidade na composição e preservação das amostras e menor tempo despendido na coleta. Entretanto, nem sempre os amostradores automáticos estão disponíveis e, nesse caso, é possível que a coleta composta seja realizada manualmente, coletando amostras em intervalos de tempo regulares e transferindo cada alíquota coletada para um mesmo frasco.

A amostragem composta, seja por meio de amostradores automáticos ou manual, é geralmente considerada mais adequada do que a amostragem simples. Todavia, em alguns casos, a amostragem simples pode ser considerada aceitável, por exemplo, quando a amostragem composta não for factível na prática. A coleta de amostras simples pode facilitar o trabalho, quando o objetivo é monitorar vários pontos dentro de uma determinada área, por exemplo. A coleta de amostras simples pode ser também a única abordagem possível para o monitoramento de comunidades pequenas, comunidades rurais e locais que não são atendidos por estações de tratamento de esgotos centralizadas e/ou que não possuem os equipamentos ou equipes disponíveis para a realização de amostragem composta (WEF, 2020). No caso de amostragens simples realizadas em cidades de maior porte, com estações de tratamento centralizadas, é importante ainda considerar o tempo de percurso do esgoto na rede coletora, visto que a coleta em determinado ponto do sistema de esgotamento sanitário pode refletir as condições do esgoto gerado em momento distinto.

Apesar das vantagens associadas à praticidade da coleta simples, a coleta composta de 24 horas vem sendo reportada em vários estudos (Medema *et al.*, 2020; Ahmed *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020; Sherchan *et al.*, 2020; La Rosa *et al.*, 2020; Lodder e Husman, 2020) e considerada mais representativa das concentrações do material genético do SARS-CoV-2 no esgoto (Curtis *et al.*, 2020; WEF, 2020; Rafiee *et al.*, 2021; Nemudryi *et al.*, 2020). Na prática, entretanto, períodos de coleta acima de 6-8 horas têm se mostrado inviáveis no contexto brasileiro, especialmente quando é necessário monitorar vários pontos ao longo do sistema de esgotamento sanitário.

Dessa forma, coletas de amostras compostas com duração de 2 a 8 horas também têm sido consideradas adequadas (WEF, 2020). Experiências do presente Projeto Piloto têm demonstrado que, para o monitoramento de sub-bacias de esgotamento sanitário, no caso de amostras tomadas diretamente da rede coletora e interceptora de esgoto, a amostragem por um período de 4 horas no turno da manhã tem sido representativa das cargas virais eliminadas pelas pessoas infectadas pelo SARS-CoV-2, uma vez que as cargas virais detectadas têm seguido as tendências da situação reportada para as regiões monitoradas, em termos de agravamento ou abrandamento da pandemia de COVID-19 ao longo do tempo.

Para entender melhor o impacto da coleta de amostras simples e compostas na determinação das concentrações do SARS-CoV-2 no esgoto, esses dois tipos de amostragens foram comparados para o monitoramento de quatro sub-bacias de esgotamento sanitário de Belo Horizonte. A metodologia utilizada e os resultados obtidos são apresentados a seguir.

5.2.1 Escolha dos pontos de amostragem para a realização do estudo

As coletas foram realizadas em quatro sub-bacias de esgotamento sanitário com características distintas, principalmente em termos de extensão e tempo de percurso do esgoto na rede coletora e interceptora da cidade de Belo Horizonte, conforme é apresentado na Tabela 5.2. Na Figura 5.5 é apresentada a localização dos pontos de monitoramento com suas respectivas áreas de contribuição.

Tabela 5.2 – Identificação e características das sub-bacias de esgotamento sanitário contempladas no estudo

IDENTIFICAÇÃO	DESCRIÇÃO	EQUIVALENTE POPUCACIONAL	VAZÃO MÉDIA ESTIMADA (L/S)	TEMPO DE PERCURSO DO ESGOTO NA REDE (H)
SBA-04	Ribeirão Arrudas (margem esquerda) - Sub-bacia do Ribeirão Arrudas	286.191	470	2,81
SBA-05	Córrego Pastinho - Sub-bacia do Ribeirão Arrudas	43.297	71	0,47
SBO-01	Córrego Ressaca/Sarandi - Sub-bacia do Ribeirão Onça	328.948	513	0,58
SBO-02	Córregos Mergulhão/ Tijuco - Sub-bacia do Ribeirão Onça	10.341	16	0,53

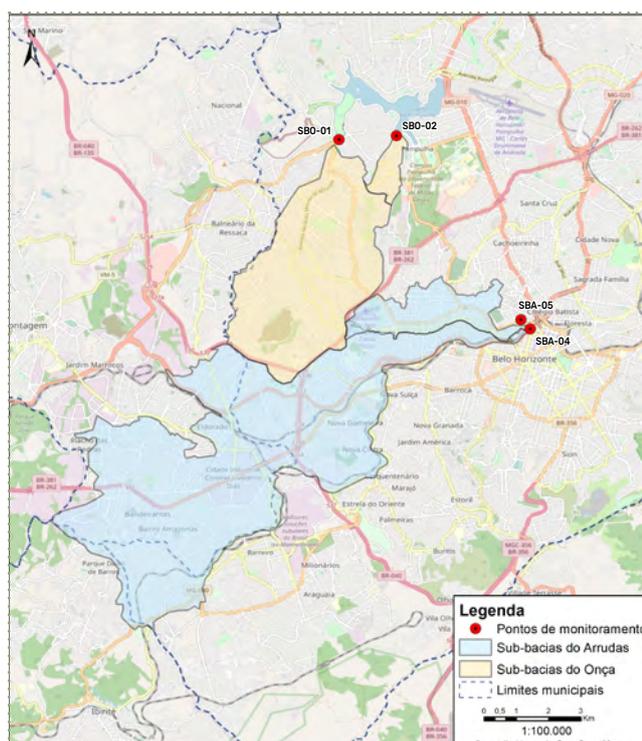


Figura 5.5 – Sub-bacias de esgotamento sanitário contempladas no estudo

5.2.2 Amostragem e processamento das amostras

Para os quatro pontos de monitoramento foram realizadas amostragens simples e compostas. As campanhas de amostragem foram realizadas em três semanas consecutivas nos meses de agosto e setembro de 2020, nas semanas epidemiológicas 35, 36 e 37 de 2020. As coletas ocorreram no período da manhã, das 8h até as 12h. As coletas das amostras compostas tiveram duração de 1, 2, 3 e 4 horas, e foram realizadas por meio de um amostrador automático, que coletava 400 mL a cada intervalo de 10 minutos, perfazendo um volume total de aproximadamente 2,4 L para cada hora de operação. Durante todo o período da amostragem composta, as amostras foram mantidas sob refrigeração com a utilização de placas de gelo. As coletas simples foram realizadas manualmente, de hora em hora, quatro vezes. Em cada amostragem simples, 1 L de esgoto era coletado. O esgoto coletado pelos dois tipos de amostragem foi acondicionado em um isopor com gelo e transferido até o laboratório. A Figura 5.6 apresenta a representação esquemática das amostragens simples e compostas.

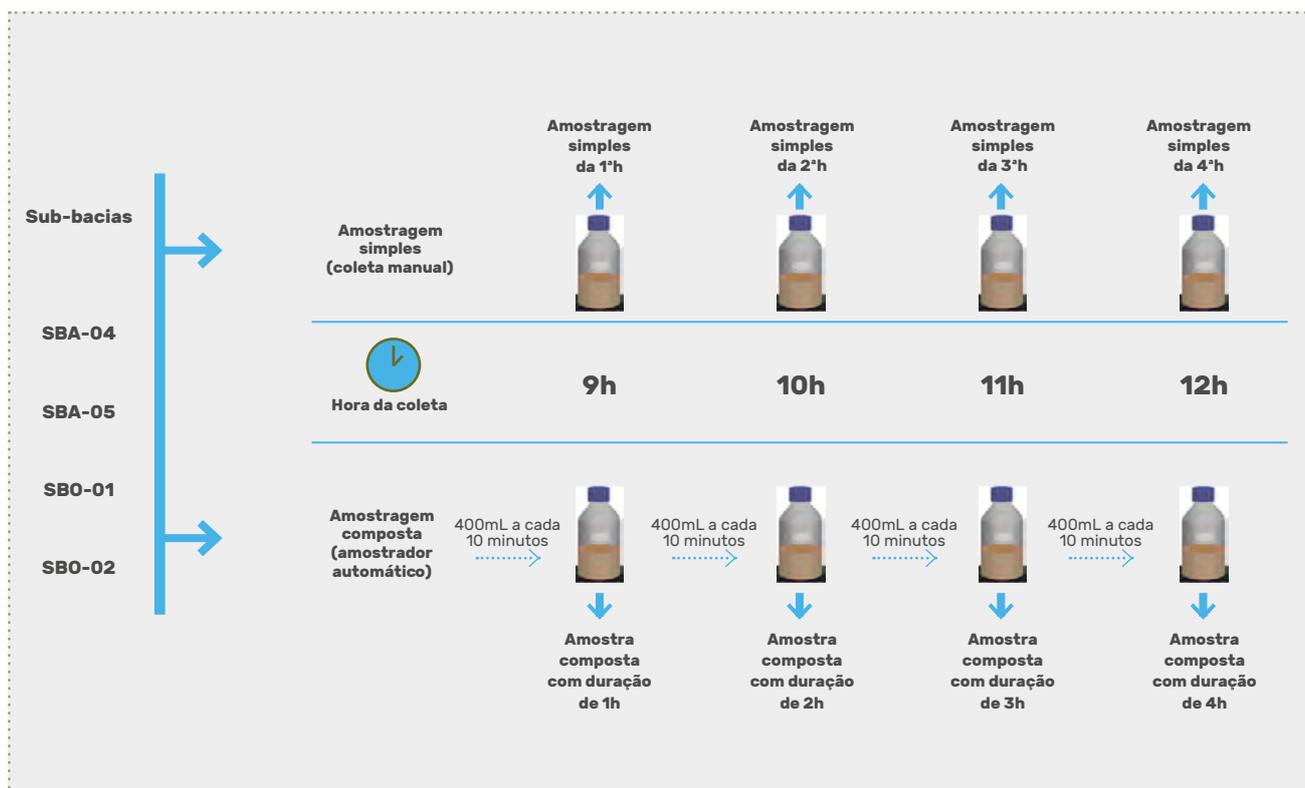


Figura 5.6 – Esquema das amostragens simples e compostas realizadas para o estudo

Ao ingressarem no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG, as amostras foram submetidas à análise para detecção e quantificação do SARS-CoV-2 (utilizando a região alvo N1) por RT-qPCR, seguindo a metodologia descrita no Capítulo 2 deste Atlas.

5.2.3 Campanhas de amostragem adicionais realizadas para a sub-bacia SBO-02 do Ribeirão Onça

Com intuito de ampliar a investigação sobre as diferenças entre as metodologias de amostragem simples e composta, entre dezembro de 2020 e janeiro de 2021 foram realizadas cinco novas campanhas de amostragem (nas semanas epidemiológicas 50/2020 e entre 1 e 4/2021), na sub-bacia SBO-02 do Ribeirão Onça (Córregos Mergulhão/ Tijuco). As coletas foram realizadas no período da manhã. As amostras simples, foram tomadas na por volta de 9h da manhã e as amostras compostas tiveram duração de 4 horas, sendo coletadas por volta das 12h. O motivo da escolha da sub-bacia SBO-02 para este ensaio adicional está associado a esta ser uma pequena sub-bacia de esgotamento sanitário, para a qual esperava-se menor influência dos seguintes fatores intervenientes na característica do esgoto: (i) tempo de deslocamento do esgoto na rede; e (ii) presença de efluentes de natureza não-doméstica. A amostragem simples foi realizada por volta de 9h da manhã, com intuito de representar o esgoto gerado no início da manhã, tendo em vista que

o tempo de percurso do esgoto na rede para esta sub-bacia é pequeno (aproximadamente meia hora – vide Tabela 5.2). Outro motivo para a escolha desta sub-bacia foi a elevada prevalência de casos confirmados de COVID-19 durante o período do estudo.

Para a análise dos dados e comparação entre as amostragens simples e compostas, foram também considerados os resultados obtidos para as três primeiras campanhas de amostragem nesta sub-bacia, realizadas em agosto e setembro de 2020. Os dados de concentração obtidos foram submetidos a um teste de normalidade (Teste Shapiro-Wilk) a um nível de significância de 5%. Como foi constatado que os dados não seguiam uma distribuição normal, foi realizado um teste não paramétrico para comparação entre as medianas (Teste U de Mann-Whitney) das concentrações obtidas para a amostragem simples e composta, a um nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas utilizando a plataforma R (<https://www.r-project.org>).

5.2.4 Resultados

5.2.4.1 Comparação entre amostragem simples e composta

Para avaliar as diferenças entre amostragens simples e compostas, primeiramente analisou-se a presença ou ausência do SARS-CoV-2 nas diferentes amostragens realizadas. Das 48 amostras simples

coletadas durante as três campanhas de amostragem, 46 (96%) foram positivas para o SARS-CoV-2 e 28 (58%) apresentaram concentração de SARS-CoV-2 superior ao limite de detecção (LD) do método (igual a 3,6 cópias/ mL). Das 48 amostras compostas, 47 (98%) foram positivas para a presença do material genético do vírus e 34 amostras (71%) apresentaram concentração viral superior ao LD (Tabela 5.3).

Importante mencionar que a única amostra composta que apresentou resultado negativo para a presença do vírus (coletada no ponto SBA-05, com

duração de 2 horas), teve sua amostra simples correspondente (coletada na mesma hora) também negativa. Dessa forma, foi observado que tanto a coleta simples, quanto a coleta composta foi capaz de detectar a presença do SARS-CoV-2 na grande maioria das amostragens realizadas. Entretanto, boa parte das amostras simples que foram positivas para o SARS-CoV-2 apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção do método, o que foi observado em menor proporção para as amostras compostas (Tabela 5.3), sugerindo maior representatividade e confiabilidade da amostragem composta.

Tabela 5.3 – Detecção do SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto coletas pelos métodos de amostragem simples e composta

MÉTODO DE AMOSTRAGEM	N° AMOSTRAS POSITIVAS/ N° AMOSTRAS TESTADAS					FREQUÊNCIA DE AMOSTRAS POSITIVAS (%)
	CAMPANHA DE AMOSTRAGEM	SBA-04	SBA-05	SBO-01	SBO-02	
Simples	1	4/4	4/4	4/4	4/4	96
	2	4/4	3/4	4/4	3/4	
	3	4/4	4/4	4/4	4/4	
Composta	1	4/4	4/4	4/4	4/4	98
	2	4/4	3/4	4/4	4/4	
	3	4/4	4/4	4/4	4/4	
MÉTODO DE AMOSTRAGEM	N° DE AMOSTRAS POSITIVAS ACIMA DO LD* / N° DE AMOSTRAS TESTADAS					FREQUÊNCIA DE AMOSTRAS POSITIVAS (%)
	CAMPANHA DE AMOSTRAGEM	SBA-04	SBA-05	SBO-01	SBO-02	
Simples	1	4/4	4/4	4/4	3/4	58
	2	4/4	1/4	2/4	1/4	
	3	1/4	1/4	2/4	1/4	
Composta	1	4/4	4/4	4/4	4/4	71
	2	3/4	1/4	3/4	3/4	
	3	3/4	3/4	0/4	2/4	

* LD (Limite de detecção) = 3,6 cópias/ mL

Para comparação entre os tipos de amostragens, as concentrações virais detectadas nas amostras simples coletadas após cada hora (1ª, 2ª, 3ª e 4ª hora) foram comparadas com as concentrações obtidas para as amostras compostas correspondentes (que tiveram duração de 1, 2, 3 e 4 horas). A Figura 5.7 (a-d) apresenta as concentrações de SARS-CoV-2 medidas nos pontos de amostragem durante as três campanhas de amostragem (nas semanas epidemiológicas 35, 36 e 37). Dentre as amostras compostas analisadas, considerando todos os pontos de monitoramento, a maioria (32 de 48 amostras – 67%), apresentou concentração viral 20% superior em relação a sua amostra simples correspondente (coletada na mesma hora).

No caso dos pontos SBA-04 (margem esquerda do Ribeirão Arrudas) e SBO-01 (Córrego Ressaca/ Sa-

randi), as maiores sub-bacias avaliadas, isso ocorreu para 58% e 50%, respectivamente das amostragens realizadas. Para o ponto SBA-05 (Córrego Pastinho), em 83%, e para o ponto SBO-02 (Córrego Mergulhão/ Tijuco), em 75% das amostras analisadas. As maiores concentrações detectadas nas amostras compostas, quando comparadas às amostras simples correspondentes, na maioria das amostragens realizadas, pode indicar certa superioridade do método de amostragem composta em captar o material genético do SARS-CoV-2 no esgoto.

No presente estudo foi observado que nas menores sub-bacias (SBA-05 e SBO-02) ficou mais evidenciada a superioridade da amostragem composta em relação à simples, visto que as amostras compostas foram capazes de detectar o SARS-CoV-2 em maiores concen-

trações na grande maioria dos eventos de amostragem. Especialmente em sub-bacias menores, a presença do material genético viral no esgoto pode ser esporádica e as concentrações virais podem variar consideravelmente ao longo do tempo e com as variações de vazão ao longo do dia. Em regiões onde há menor população servida, a variação esperada dos hábitos de ir ao banheiro da população tende a ser mais acentuada, e conseqüentemente, mais acentuadas serão as variações dos parâmetros do esgoto ao longo do dia. Dessa forma, para o monitoramento de regiões pequenas, a amostragem composta tende a ser mais representativa.

Outro aspecto importante a ser considerado, é o tempo de percurso do esgoto na rede de esgotamento. Especialmente em bacias muito extensas, com tempos de percurso do esgoto na rede muito elevados (acima de 1 hora), provavelmente a amostragem realizada em deter-

minada hora do dia não representará o esgoto que está sendo produzido nesta mesma hora. Isso ocorre principalmente quando se utiliza a amostragem simples.

No presente estudo, foi possível observar que na sub-bacia SBA-04 do Ribeirão Arrudas (Ribeirão Arrudas – margem esquerda), que é a bacia que apresenta maior tempo de percurso do esgoto na rede dentre as bacias monitoradas (aproximadamente 3 horas), houve tendência de se detectar maiores concentrações de SARS-CoV-2 na última coleta simples (4ª hora, realizada por volta de 12h) (Figura 5.7a). Possivelmente isso ocorreu, pois a coleta simples da 4ª hora representa a contribuição de esgoto das primeiras horas da manhã nesta sub-bacia (em função do tempo de percurso na rede até o ponto de coleta), período em que se espera ter uma maior utilização das peças sanitárias pela população.

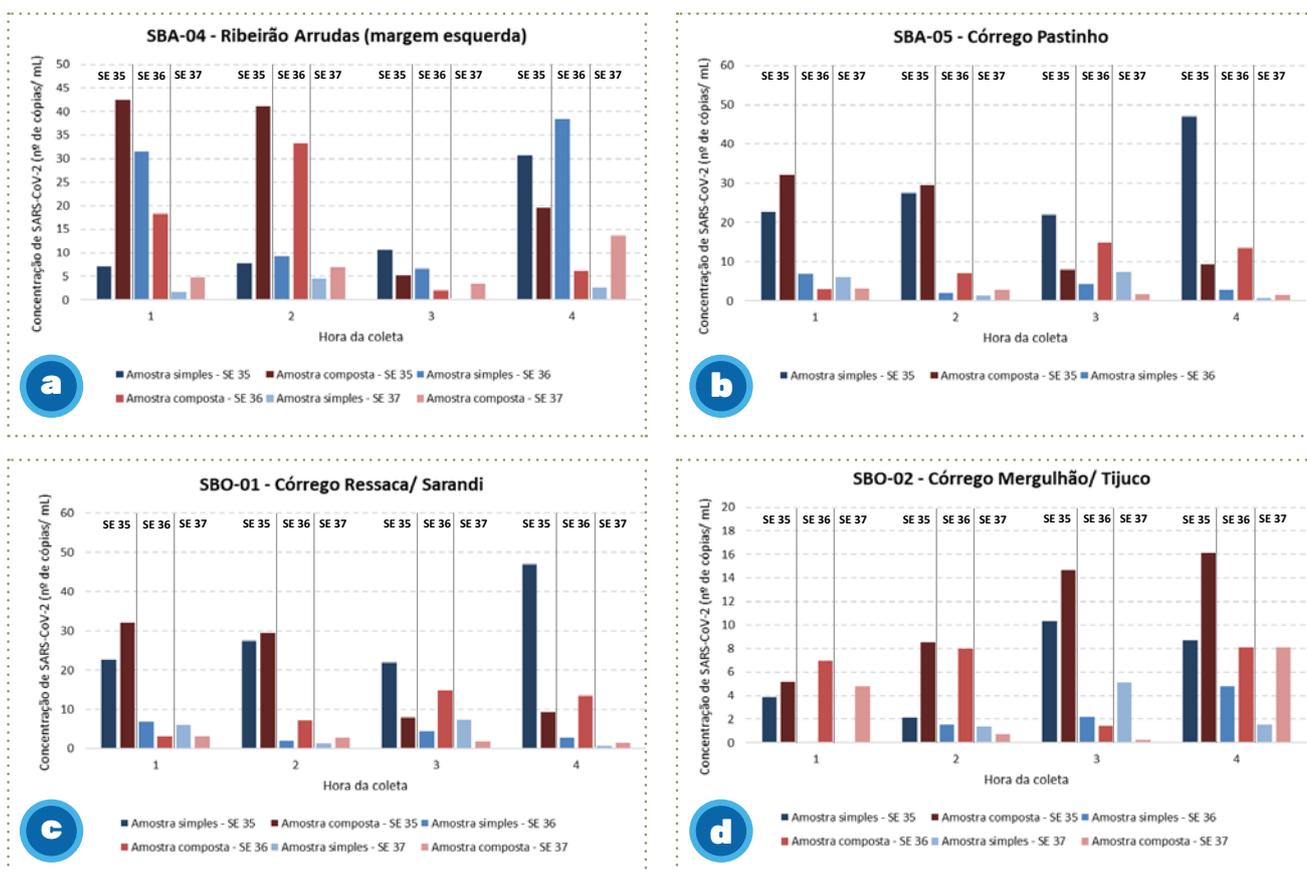


Figura 5.7 – Concentrações de SARS-CoV-2 para as amostras simples e compostas, por hora, durante as três campanhas de amostragem realizadas (Semanas epidemiológicas 35, 36 e 37) para os pontos de monitoramento (a) SBA-04 – Ribeirão Arrudas (margem esquerda), (b) SBA-05 (Córrego Pastinho), (c) SBO-01 Córrego Ressaca/ Sarandi e (d) SBO-02 Córrego Mergulhão/ Tijuco.

A Tabela 5.4 apresenta a estatística descritiva das concentrações obtidas para o SARS-CoV-2 durante as três campanhas de amostragem para os quatro pontos de monitoramento. Para a sub-bacia SBA-04 (Ribeirão Arrudas – Margem esquerda) as médias das concentrações de SARS-CoV-2 das amostras simples variaram entre 5,8 e 24 cópias/ mL e das

amostras compostas entre 3,5 e 27,2 cópias/ mL, durante o período de amostragem. Considerando as três campanhas, a variabilidade das concentrações virais obtidas foi elevada tanto para as amostras simples, quanto para as amostras compostas, como pode ser observado pelos elevados valores nos desvios-padrão e nos coeficientes de variação (CV).

Quando se comparam as amostras compostas com suas amostras simples correspondentes, observa-se que a variabilidade é menor para as amostras compostas. Exceção ocorreu para as amostras coletadas durante a 2ª hora, nesta sub-bacia (SBA-04). Os CV para as amostras compostas foram iguais a 87,5%, 66,1%, 45,3% e 51,3% e para as amostras simples foram iguais a 118,1%, 34,7%, 90,3% e 78,7%, na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª horas de coleta, respectivamente (Tabela 5.4). Para a sub-bacia SBA-05 do Ribeirão Arrudas (Córrego Pastinho), as médias das concentrações variaram entre 5,9 e 40,7 cópias/ mL para as amostras simples e entre 32,2 e 71,1 cópias/ mL para as amostras compostas ao longo das 4 horas de coleta. A variabilidade das concentrações obtidas foi bastante elevada para essa sub-bacia, considerando os três dias de ensaio. Na comparação entre os métodos de amostragem, as concentrações das amostras compostas coletadas com 1 e 4 horas apresentaram menor variabilidade em relação às suas amostras simples correspondentes, como pode ser observado pelos CV iguais a 165,0% e 99,7% calculados para amostras compostas de 1 e 4 horas, em detrimento dos CV iguais a 167,0% e 104,4% calculados para as amostras simples, para as coletas da 1ª e 4ª horas, respectivamente. Ao contrário do que era esperado, as concentrações das amostras compostas de 2 e 3 horas foram mais variáveis, apresentando CV iguais a 164,8% e 165,6%, respectivamente, em detrimento do método de amostragem simples, cujas concentrações tiveram CV iguais a 147,0% e 161,1%, na 2ª e 3ª hora de coleta, respectivamente (Tabela 5.4).

Na sub-bacia SBO-01 do Ribeirão Onça (Córrego Ressaca/ Sarandi) as médias das concentrações do SARS-CoV-2 variaram entre 10,3 e 16,8 cópias/mL utilizando o método de amostragem simples e entre 8,1 e 13,2 cópias/ mL utilizando o método de amostragem composta ao longo das 4 horas de coleta. Comparando-se os CV das amostras compostas com suas amostras simples correspondentes, é possível observar que, novamente, as amostras compostas apresentaram menor variabilidade. Os CV das amostras compostas de 2, 3 e 4 horas de coleta, com valores iguais a 112,8%, 79,3% e 74,1%, respectivamente, foram menores do que os CV das amostras simples correspondentes, iguais a 144,3%, 83,1% e 155,4%, respectivamente (Tabela 5.4).

Para a sub-bacia SBO-02 do Ribeirão Onça (Córrego Mergulhão/Tijucu), as médias das concentrações virais variaram entre 1,32 e 5,89 cópias/ mL para as amostras simples e entre 5,5 e 10,8 cópias/mL para as amostras compostas, durante as 4 horas de coleta, nas três campanhas de amostragem. A variabilidade dos dados foi menor para as amostras compostas com duração de 1 e 4 horas, com CV iguais a 20,7% e 42,8%, respectivamente, quando comparadas às suas respectivas amostras simples, com CV

iguais a 29,9% e 71,6%, respectivamente (Tabela 5.4). A mesma tendência foi observada para a sub-bacia SBA-05 do Ribeirão Arrudas.

De maneira geral, é possível afirmar que houve uma maior variabilidade dos resultados quando utilizado o método de amostragem simples. Além disso, as médias das concentrações virais obtidas também foram menores para as amostras simples quando comparadas as suas amostras compostas correspondentes (coletadas na mesma hora). Esse resultado corrobora resultados de outros estudos em que foram comparadas as coletas simples e compostas para detecção de SARS-CoV-2 (Curtis *et al.*, 2020; Rafiee *et al.*, 2021).

Importante mencionar que a amostragem simples pode ser utilizada para a vigilância epidemiológica do SARS-CoV-2 no esgoto, especialmente quando a amostragem composta não é viável (WEF, 2020). No entanto, é importante levar em consideração que a acurácia e representatividade deste método de amostragem pode ser menor, especialmente quando a prevalência de indivíduos infectados na região monitorada é baixa, visto que a concentração viral pode ser diluída no esgoto a níveis que dificultem a sua detecção quando de apenas uma tomada amostral (Curtis *et al.*, 2020; Rafiee *et al.*, 2021).

Tabela 5.4 – Estatística descritiva das concentrações de SARS-CoV-2 por hora nas três campanhas de amostragem realizadas.

SBA-04 – RIBEIRÃO ARRUDAS (MARGEM ESQUERDA)												
AMOSTRAS SIMPLES (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						AMOSTRAS COMPOSTAS (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						
HORAS	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)
1	13,4 ± 15,9	1,8	31,5	4,4	19,3	118,1	21,9 ± 19,1	4,7	42,5	11,5	30,4	87,5
2	7,1 ± 2,5	4,4	9,3	6,1	8,5	34,7	27,2 ± 17,9	7	41,2	20,1	37,3	66,1
3	5,8 ± 5,3	0,2	10,6	3,4	8,6	90,3	3,5 ± 1,6	2	5,2	2,7	4,3	45,3
4	24,0 ± 18,9	2,7	38,5	16,7	34,6	78,7	13,2 ± 6,8	6,2	19,6	10	16,7	51,3
SBA-05 – CÓRREGO PASTINHO												
AMOSTRAS SIMPLES (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						AMOSTRAS COMPOSTAS (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						
HORAS	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)
1	40,7 ± 68,0	1,2	119,3	1,5	60,5	167	51,8 ± 85,4	0,2	150,4	2,5	77,5	165
2	14,2 ± 20,8	0	38,1	2,2	21,2	147	71,1 ± 117,1	0	206,2	3,5	106,6	164,8
3	5,9 ± 9,5	0,2	16,8	0,4	8,7	161,1	52,0 ± 86,1	1,1	151,5	2,3	77,5	165,7
4	10,4 ± 10,8	2,7	22,7	4,2	14,2	104,4	32,2 ± 32,1	13,5	69,2	13,7	41,5	99,7
SBO-01 – CÓRREGO RESSACA/ SARANDI												
AMOSTRAS SIMPLES (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						AMOSTRAS COMPOSTAS (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						
HORAS	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)
1	11,9 ± 9,3	6	22,6	6,5	14,7	78,6	12,8 ± 14,3	3	32,2	3,1	17,6	112,3
2	10,3 ± 14,9	1,4	27,4	1,7	14,7	144,3	13,2 ± 14,9	2,8	29,5	5	18,4	112,8
3	11,2 ± 9,3	4,4	21,9	5,9	14,6	83,1	8,2 ± 6,5	1,8	14,8	4,9	11,4	79,3
4	16,8 ± 26,2	0,7	47	1,7	24,9	155,4	8,1 ± 6,0	1,6	13,5	5,5	11,4	74,1
SBO-02 – CÓRREGO MERGULHÃO/ TIJUCO												
AMOSTRAS SIMPLES (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						AMOSTRAS COMPOSTAS (CONCENTRAÇÃO – N° CÓPIAS/ ML)						
HORAS	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)	MÉDIA ± DP	MÍN	MÁX	25%	75%	CV (%)
1	1,3 ± 0,4	0	3,9	0,1	2	29,9	5,7 ± 1,2	4,8	7	5	6,1	20,7
2	1,7 ± 0,4	1,4	2,1	1,5	1,9	23,3	5,8 ± 4,4	0,8	8,5	4,4	8,3	75,5
3	5,9 ± 4,1	2,2	10,3	3,7	7,7	70	5,5 ± 8,0	0,2	14,7	0,8	8,1	147,1
4	5,0 ± 3,6	1,6	8,7	3,2	6,7	71,5	10,8 ± 4,6	8,1	16,1	8,1	12,1	42,8

*DP: Desvio Padrão; Mín: Mínimo; Máx: Máximo; 25%: Percentil 25%; 75%: Percentil 75%; CV: Coeficiente de variação, calculado pelo desvio-padrão dividido pela média e multiplicado por 100.

5.2.4.2 Comparação entre diferentes tempos de amostragem composta

A fim de avaliar como diferentes tempos de amostragem composta poderiam impactar na quantificação de SARS-CoV-2 no esgoto, amostras compostas de 1, 2, 3 e 4 horas foram coletadas nos quatro pontos monitorados durante as três campanhas de amostragem (meses de agosto e setembro de 2020, correspondente às semanas epidemiológicas 35, 36 e 37). Esta análise teve o intuito de avaliar possíveis tendências de aumento, diminuição ou estabilidade das concentrações de SARS-CoV-2 ao longo do tempo da amostragem composta. A Figura 5.8 (a-d) apresenta a variação temporal das concentrações de SARS-CoV-2 das amostras compostas ao longo do tempo.

Não foram encontradas correlações fortes entre o tempo de amostragem e as concentrações virais para a maioria dos ensaios realizados. Exceção ocorreu para os ensaios realizados na sub-bacia SBO-01

do Ribeirão Onça (Córrego Ressaca/ ETAF), em que na primeira (SE 35) e terceira (SE 37) campanhas de amostragem foram observadas fortes correlações negativas entre as concentrações virais e o tempo da amostragem composta, de acordo com os valores dos coeficientes determinação (R^2) e de correlação (ρ) obtidos ($R^2=0,8159$; $\rho=-0,9032$ e $R^2=0,9373$; $\rho=-0,9681$, para as semanas epidemiológicas 35 e 37, respectivamente). Ou seja, houve tendência de redução das concentrações virais com o aumento do tempo de coleta. Entretanto, na segunda campanha de amostragem (SE 36) nesta mesma sub-bacia foi encontrada forte correlação positiva entre as concentrações virais e o tempo de coleta ($R^2=0,8335$; $\rho=0,913$), com tendência de aumento das concentrações virais em função do aumento do tempo da coleta (Figura 5.8c). Foi encontrada forte correlação positiva entre as concentrações de SARS-CoV-2 e o tempo também na 1ª campanha (SE 35) realizada na sub-bacia de esgotamento SBO-02 do Ribeirão Onça ($R^2=0,9524$; $r=0,975$; Figura 5.8d).

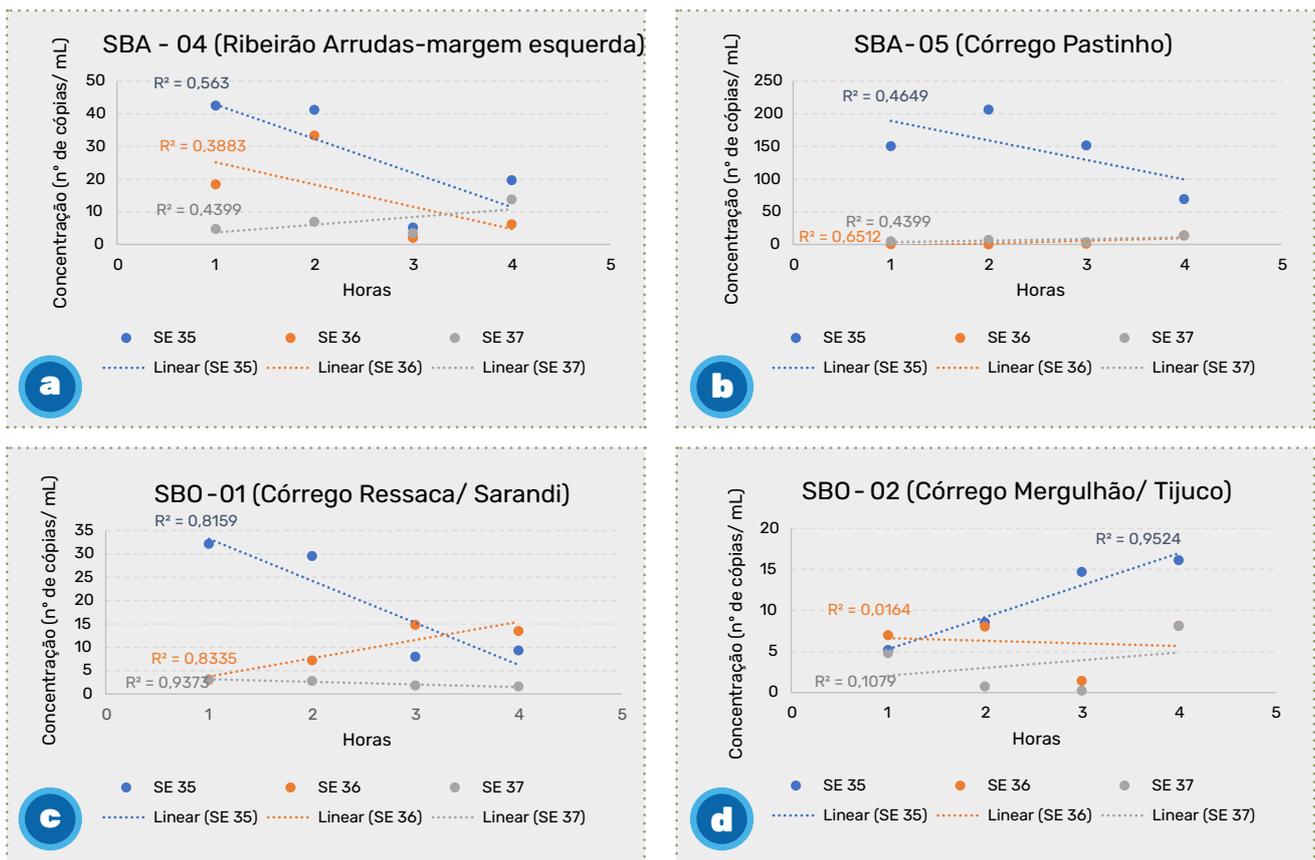


Figura 5.8 – Variação das concentrações de SARS-CoV-2 nas amostras compostas em função do tempo de coleta para os pontos (a) SBA-04 Ribeirão Arrudas (margem esquerda), (b) SBA-05 Córrego Pastinho, (c) SBO-01 Córrego Ressaca/ Sarandi e (d) SBO-02 Córrego Mergulhão/ Tijuco durante as três campanhas de amostragem realizadas nas semanas epidemiológicas 35, 36 e 37.

5.2.4.3 Comparação entre amostragem simples e composta na sub-bacia 0-2 do Ribeirão Onça

A Figura 5.9 apresenta a estatística descritiva dos resultados obtidos para as análises adicionais realizadas na sub-bacia SBO-02 do Ribeirão Onça (Cór-

rego Mergulhão/ Tijuco), com intuito de comparar as amostras simples (amostra coletada manualmente na primeira hora da campanha de amostragem) e as amostras compostas com duração de 4 horas (tempo de amostragem que foi utilizado para as coletas compostas no decorrer do Projeto Piloto).

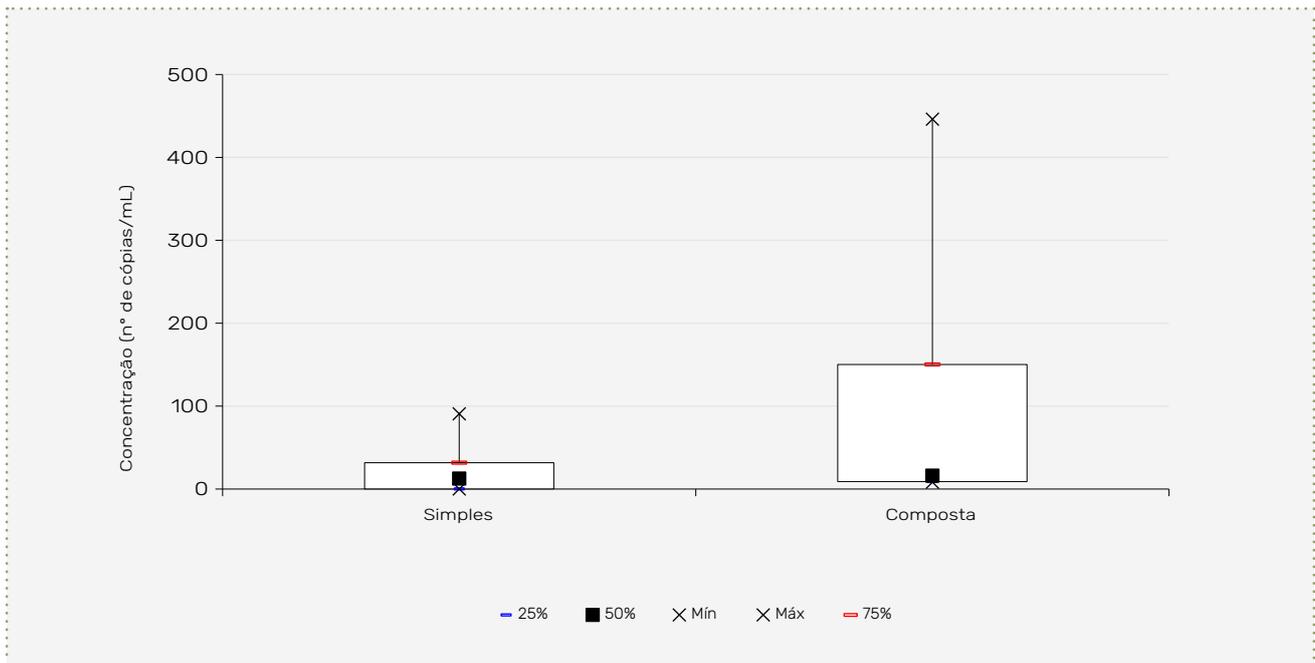


Figura 5.9 – Box-plot das concentrações de SARS-CoV-2 obtidas para a amostragem simples e composta no ensaio adicional realizado para a sub-bacia SBO-02 do Ribeirão Onça (Córrego Mergulhão/ Tijuco)

As medianas das concentrações obtidas foram iguais a 16,0 e 12,5 cópias/mL para a amostragem composta e simples, respectivamente. Não foram identificadas diferenças significativas entre as medianas obtidas para a amostragem simples e composta, a um nível de significância de 5%. Dessa forma, no caso da avaliação realizada nesta sub-bacia, a coleta simples pareceu ser tão representativa quanto a coleta composta de 4 horas. Cabe ressaltar que nesta campanha adicional de amostragem as amostras simples foram tomadas durante a primeira hora de coleta, visto que a sub-bacia SBO-02 é uma sub-bacia pequena, com pequeno tempo de percurso no esgoto, de aproximadamente meia hora. Dessa forma, objetivou-se captar as contribuições do início da manhã, quando geralmente há maior utilização dos banheiros por um maior número de pessoas. Assim, salienta-se que informações sobre a vazão, bem como sobre o tempo de percurso do esgoto na rede devem ser levadas em consideração, principalmente quando a coleta simples for adotada, a fim de definir qual o melhor horário para a realização da coleta.

5.2.5 Conclusões

- Ambos os métodos de amostragem (simples e composta) foram capazes de detectar o SARS-CoV-2 na grande maioria das amostragens analisadas. Entretanto, foi observada frequência superior de amostras compostas (71%) com concentração acima do limite de detecção do método (igual a 3,6 cópias/ mL), em comparação com as amostras simples (58%) analisadas.
- Quando foram comparadas as concentrações virais obtidas a partir das amostras simples em relação às amostras compostas correspondentes (coletadas na mesma hora), observou-se que as amostras compostas resultaram em concentrações maiores de SARS-CoV-2, com 66% do total de amostras compostas com concentração 20% superior em relação às suas amostras simples correspondentes.
- Para as menores sub-bacias (SBA-05 – Córrego Ressaca/ Sarandi e SOB-02 – Córrego Mergulhão/ Tijuco) investigadas, a porcentagem de amostras compostas com concentração superior à simples foi ainda mais acentuada (83% para SBA-05 e 75% para SOB-02). Sugerindo que a amostragem composta é mais indicada e representativa, nos casos das sub-bacias menores.
- Considerando as três campanhas de amostragem, observou-se grande variação das concentrações virais ao longo do tempo, tanto para as amostras simples, quanto para as amostras compostas. Entretanto, maior variabilidade entre as três campanhas realizadas foi observada para as amostras simples, quando comparadas às suas amostras compostas correspondentes (coletadas na mesma hora).
- A avaliação das variações temporais das amostras compostas não permitiu a observação de correlações entre o tempo da amostragem composta e as concentrações de SARS-CoV-2.
- Na campanha de amostragem adicional realizada na sub-bacia SBO-02 do Ribeirão Onça,

não foram identificadas diferenças significativas nas concentrações de SARS-CoV-2 entre as amostras simples (coletadas na primeira hora da amostragem) e as amostras compostas de 4 horas. Dessa forma, observou-se que a coleta simples foi capaz de representar as concentrações virais no esgoto tanto quanto as amostras compostas. No entanto, é importante considerar o tempo de percurso do esgoto na rede para a definição de qual seria o melhor horário para a realização da coleta.

- Por fim, é importante salientar a possibilidade da utilização da amostragem simples para o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto, quando não há recursos disponíveis para a realização de amostragem composta. Quando a amostragem composta for possível recomenda-se sua utilização.

5.2.6 Referências bibliográficas

AHMED, W.; ANGEL, N.; EDSON, J.; BIBBY, K.; BIVINS, A.; O'BRIEN, J. W.; CHOI, P. M.; KITAJIMA, M.; SIMPSON, S. L.; LI, J.; TSCHARKE, B.; VERHAGEN, R.; SMITH, W. J. M.; ZAUGG, J.; DIERENS, L.; HUGENHOLTZ, P.; THOMAS, K. V.; MUELLER, J. F. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. **Sci. Total Environ**, 728 (138764), 1-8, 2020. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.138764.

CURTIS, K.; KEELING, D.; YETKA, K.; LARSON, A.; GONZALEZ, R. Wastewater SARS-CoV-2 RNA Concentration and Loading Variability from Grab and 24-Hour Composite Samples. 2020 **medRxiv**. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.07.10.20150607>.

LA ROSA, G.; IACONELLI, M.; MANCINI, P.; BONANNO FERRARO, G.; VENERI, C.; BONADONNA, L.; LUCENTINI, L.; SUFFREDINI, E. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters

in Italy. **Sci. Total Environ**. 736, 139652, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652.

LODDER, W.; HUSMAN, A. M. R. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. **Lancet Gastroenterol Hepatol.**, 5(6), 533-534, 2020. DOI: 10.1016/S2468-1253(20)30087-X.

MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R. 2020. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. **Environ. Sci. Technol. Lett.**, 7, 7, 511-516, 2020. DOI: 10.1021/acs.estlett.0c00357.

RAFIEE, M.; ISAZADEH, S.; MOHSENI-BANDPEI, A.; MOHEBI, S. R.; JAHANGIRI-RAD, M.; ESLAMI, A.; DABIRI, H.; ROOSTAEI, K.; TANHAEI, M. AMEREH, F. 2021. Moore swab performs equal to composite and outperforms grab sampling for SARS-CoV-2 monitoring in wastewater. **Science and the Total Environment**, 790, 148205, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148205.

RICO, M.; ANDRÉS-COSTA, M. J.; PICO, Y. Estimating population size in wastewater-based epidemiology. Valencia metropolitan area as a case study. **J. Hazard. Mater.**, 323 (Pt A), 156-165, 2017. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.05.079.

SHERCHAN, S. P.; SHAHIN, S.; WARD, L. M.; TANDUKAR, S.; AW, T. G.; SCHIMITZ, B.; AHMED, W.; KITAJIMA, M. First Detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA. **Sci. Total Environ**. 15, 743, 140621, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140621.

WRF - The Water Research Foundation. Wastewater surveillance of the COVID-19 genetic signal in sewersheds. Recommendations from global experts. 2020. 27 p.

WU, F.; XIAO, A.; ZHANG, J.; GU, X.; LEE, W.; KAUFFMAN, K.; HANAGE, W. P.; MATUS, M. GHAELI, N.; ENDO N.; DUVALLET C.; MONIZ K.; ERICKSON T. B.; CHAI, P. R.; THOMPSON, J.; ALM E. J. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. **mSystems**, 5 (4), 2020. DOI: 10.1101/2020.04.05.20051540.



5.3 Monitoramento do vírus SARS-CoV-2 em amostras de esgoto de locais com grande circulação de pessoas

Foram monitoradas as concentrações do material genético do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto sanitário provenientes de locais considerados estratégicos do ponto de vista epidemiológico da disseminação da COVID-19, na região metropolitana de Belo Horizonte, onde há grande circulação de pessoas. O principal objetivo desse estudo foi o de compreender se o monitoramento da presença do vírus nos esgotos de locais específicos pode ser uma ferramenta de vigilância epidemiológica para detectar pessoas infectadas que circulem ou trabalhem nestes locais e, possivelmente, antecipar e revelar surtos nos referidos locais. Os dados obtidos das amostras desses locais foram comparados aos obtidos nas amostras das duas principais estações de tratamento de esgotos de Belo Horizonte (ETE Arrudas e ETE Onça), visando verificar possíveis tendências similares.

Informações mais detalhadas sobre o monitoramento do SARS-CoV-2 em locais com grande circulação de pessoas até janeiro de 2022 podem ser encontradas em estudo realizado por Araújo et al. (2022).

5.3.1 Locais monitorados

Os locais monitorados no âmbito dessa investigação foram:

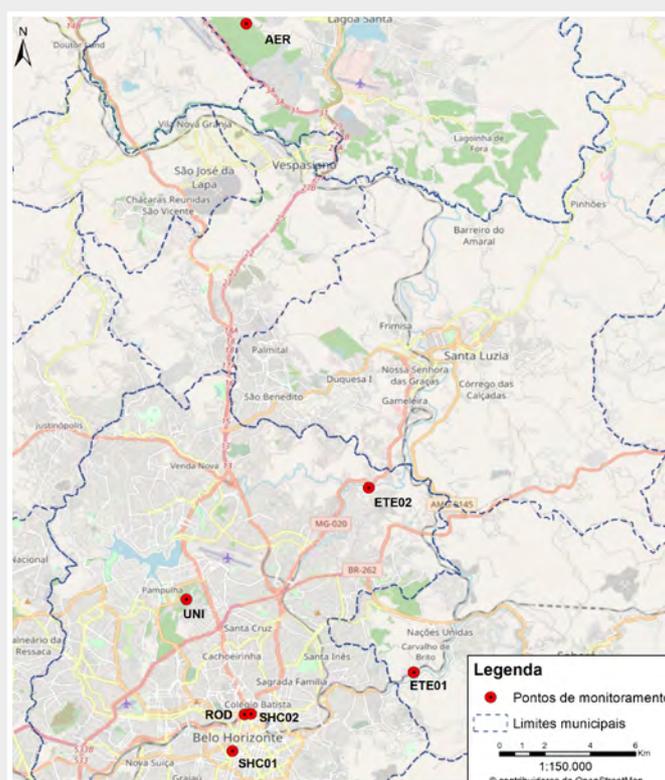
- Estação de tratamento de esgotos do Aeroporto Internacional de Confins (AER): local com grande circulação de pessoas, cujo público tem origem em área de abrangência regional, estadual, nacional e internacional. Cabe destacar

que os aeroportos são importantes vias de entrada de pessoas contaminadas, uma vez que o transporte aéreo permite a locomoção de pessoas para locais onde há prevalência da doença e diversas variantes do vírus SARS-CoV-2.

- Terminal Rodoviário Governador Israel Pinheiro (ROD): principal rodoviária da cidade de Belo Horizonte, é um local movimentado cujo público tem origem em área de abrangência regional, estadual e nacional. De forma semelhante aos aeroportos, os terminais rodoviários podem ser importantes vias de entrada de pessoas contaminadas e de variantes do vírus, porém com um espectro menor de abrangência de circulação (restrito ao nível regional e nacional).
- Shopping Diamond Mall (SHC01): shopping localizado na região centro-sul da cidade de Belo Horizonte, cujos frequentadores em geral podem representar classes com maior poder aquisitivo.
- Shopping Oiapoque (SHC02): shopping popular localizado na região central da cidade de Belo Horizonte, cujos frequentadores podem representar de forma geral a população da cidade.
- Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UNI): local cujos frequentadores em geral são de faixa etária adulta jovem e com relativo alto grau de escolaridade. O ICB/UFMG foi selecionado também por ter permanecido em funcionamento durante todo o período pandêmico de monitoramento, embora com uma frequência de circulação de pessoas menor que a habitual.

A Figura 5.10 apresenta a localização geográfica dos locais monitorados, as informações relativas ao número aproximado de pessoas circulando diariamente e o período de monitoramento.





PONTOS DE MONITORAMENTO - LOCAIS COM GRANDE CIRCULAÇÃO DE PESSOAS

IDENTIFICAÇÃO DO PONTO	DESCRIÇÃO	POPULAÇÃO DIÁRIA CIRCULANTE - MÍN.-MÁX. (MÉDIA)	PERÍODO DE MONITORAMENTO
AER	ETE do Aeroporto Internacional de Confins	9,870-24,874 (16,172) ^a	30/09/2020 - 24/08/2021
UNI	Instituto de Ciências Biológicas da UFMG	300-800 (500) ^b	02/12/2020 - 24/08/2021
ROD	Terminal Rodoviário Gov. Israel Pinheiro	8,087-17,676 (10,778) ^c	30/09/2020 - 24/08/2021
SHC02	Shopping Oiapoque	23,000 ^d	09/12/2020 - 24/08/2021
SHC01	Shopping DiamondMall	12,000 ^e	24/02/2021 - 24/08/2021

- a) Número de passageiros de embarque, desembarque e conexões, conforme informado pelo setor administrativo do Aeroporto Internacional de Confins. Não foi informado o número de funcionários do próprio aeroporto.
- b) Número aproximado de pessoas que frequentaram as dependências do ICB/UFMG, conforme informado pela superintendência e diretoria.
- c) Número de passageiros de embarque e desembarque e de funcionários da própria rodoviária, sendo estes últimos equivalentes a cerca de 220 pessoas, conforme informado pelo setor administrativo da TERGIP.
- d) Número aproximado de pessoas que frequentaram diariamente o Shopping Oiapoque em setembro de 2020 conforme informado pelo setor administrativo do shopping.
- e) Número aproximado de pessoas que frequentaram diariamente o Shopping DiamondMall durante a pandemia conforme informado pelo setor administrativo do shopping.

PONTOS DE MONITORAMENTO DE REFERÊNCIA - ENTRADA DAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS (ETES)

IDENTIFICAÇÃO DO PONTO	DESCRIÇÃO	POPULAÇÃO CONTRIBUINTE (Nº HABITANTES)	PERÍODO DE MONITORAMENTO
ETE01	ETE Arrudas	1,160,488	13/04/2020 - presente*
ETE02	ETE Onça	1,084,779	13/04/2020 - presente*

Entre abril de 2020 e março de 2021 o monitoramento das ETES foi realizado no âmbito do Projeto Piloto: Monitoramento COVID Esgotos. A partir de abril de 2021, o monitoramento das ETES está sendo realizado no âmbito da Rede Monitoramento COVID Esgotos.

Figura 5.10 – Localização geográfica dos pontos de monitoramento de locais onde há grande circulação de pessoas e dos pontos de referência (ETEs municipais), número aproximado de pessoas circulantes e período de monitoramento em cada local.

A detecção e quantificação do RNA do SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto foram realizadas pela técnica de transcrição reversa seguida de reação em cadeia pela polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR), tendo como alvo a proteína do nucleocapsídeo N1, seguindo a mesma metodologia empregada para as análises das amostras de esgotos das ETEs e das sub-bacias monitoradas (Capítulo 2).

5.3.2 Detecção e quantificação da presença do vírus SARS-CoV-2 nas amostras

Na Tabela 5.5 é apresentada a frequência de positividade para a detecção e as estatísticas gerais das concentrações do vírus SARS-CoV-2 nas amostras dos locais selecionados e das ETEs.

Tabela 5.5 - Sumário das análises da detecção e quantificação do RNA do vírus SARS-CoV-2 (alvo nucleocapsídeo N1) no período de monitoramento entre 30/09/2020 e 24/08/2021

LOCAL	TOTAL AMOSTRAS ANALISADAS	AMOSTRAS POSITIVAS	FREQUÊNCIA* (%)	CONCENTRAÇÃO MÍN. - MÁX. (CÓPIAS/ML)	CONC. MEDIANA	CONC. MÉDIA
ETE01	48	48	100,0	0,40 - 200,00	31,60	45,98
ETE02	48	48	100,0	1,70 - 136,40	29,25	38,29
AER	48	41	85,4	0,00 - 137,80	3,50	15,46
ROD	40	18	45,0	0,00 - 70,00	0,00	3,46
SHC01	26	17	65,4	0,00 - 38,90	0,31	3,90
SHC02	29	15	51,7	0,00 - 114,00	0,14	7,65
UNI	28	18	64,3	0,00 - 49,50	0,26	4,23

ETE01 = esgoto afluyente à ETE Arrudas. ETE02 = esgoto afluyente à ETE Onça. AER = esgoto afluyente à ETE do Aeroporto Internacional de Confins. ROD = esgoto do Terminal Rodoviário Governador Israel Pinheiro. SCH01 = esgoto do shopping Diamond Mall. SHC02 = esgoto do shopping Oiapoque. UNI = esgoto do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG).

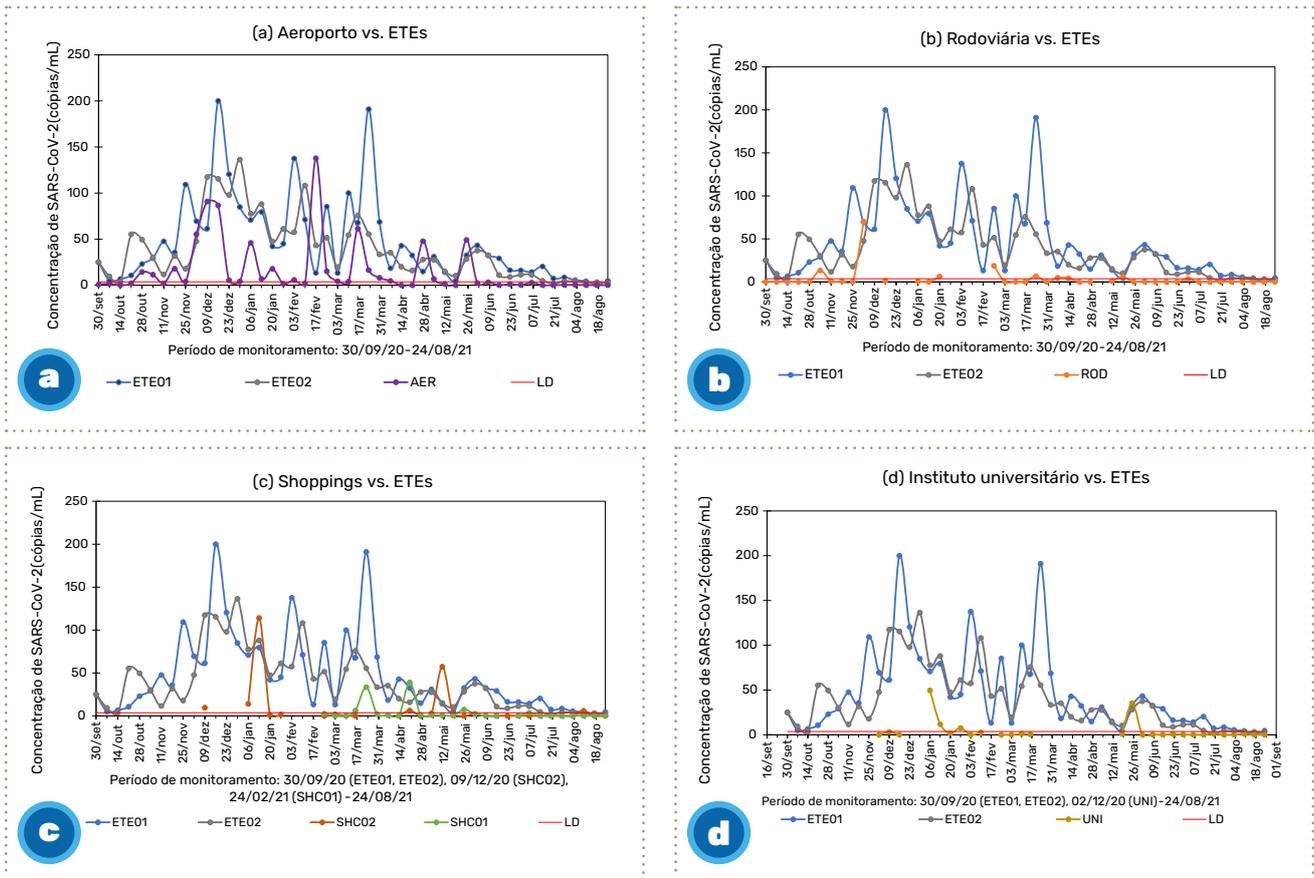
*A frequência de positividade refere-se aos percentuais de amostras que amplificaram em CT < 40, conforme CDC (2019), incluindo aquelas com concentrações abaixo do limite de detecção do método (3,6 cópias/mL). Nota: CT corresponde ao número de ciclos de qPCR necessários para o início da fase exponencial da amplificação.

Verifica-se que as concentrações medianas encontradas nos esgotos dos locais selecionados foram abaixo dos limites de detecção do método (LD), que é de 3,6 cópias/mL. Conforme reportado por Medema *et al.* (2020), quando uma amostra testa positivo, ainda que apresente baixíssimas concentrações, isso é um indicativo da presença de ao menos um indivíduo infectado, uma vez que em seu estudo foram observados sinais de amplificação do RNA viral no esgoto quando a prevalência de COVID-19 era de $\leq 1,0$ caso em 100.000 pessoas. Por meio de um modelo matemático, Hart e Halden (2020) concluíram que é possível, teoricamente, detectar o material genético do SARS-CoV-2 nos esgotos se houver 1,0 infectado entre 100 e 2.000.000 pessoas, dependendo das condições locais (temperatura, tempo de percurso do esgoto na rede coletora, consumo de água por habitante). Hong *et al.* (2021), por outro lado, em seu estudo em hospitais, observaram que um número mínimo de infectados é requerido para a detecção do vírus nos esgotos, que variou entre 253 e 409 casos positivos por 10.000 pessoas (menos de 1,0 infectado entre 100 pessoas). Ahmed *et al.* (2020) testaram amostras de esgotos de três aeronaves de voos comerciais e duas amostras de um navio de cruzeiro. Embora as concentrações tenham sido próximas do limite de detecção (que neste caso era 1 cópia/mL),

as amostras positivas indicaram a presença de passageiros contaminados, priorizando a testagem e o rastreamento dos contatos entre os passageiros. Assim, a detecção do vírus nos esgotos, independentemente da concentração, indica a circulação de pessoas infectadas nos locais monitorados.

Entre os locais públicos, a maior frequência de positividade e as maiores concentrações do SARS-CoV-2 foram observadas no esgoto afluyente à ETE do aeroporto. Não obstante, o fato de um percentual considerável de amostras testarem positivo provenientes do terminal rodoviário, shoppings e campus universitário, indica que o monitoramento do esgoto destes locais pode revelar a presença de pessoas infectadas que tenham passado por ali ou que trabalhem nestes locais. Conseqüentemente, o repasse destas informações para a administração desses locais seria útil para que fossem priorizados a testagem clínica das pessoas e o possível rastreio dos contatos (principalmente entre os trabalhadores desses locais cujo tempo de permanência é maior), de forma similar ao indicado por Ahmed *et al.* (2020).

A figura 5.11 apresenta as concentrações detectadas do vírus SARS-CoV-2 em escala temporal, comparando-se os dados dos locais selecionados aos dados das ETEs.



LD = limite de detecção do método. ETE01 = esgoto afluente à ETE Arrudas. ETE02 = esgoto afluente à ETE Onça. AER = esgoto afluente à ETE do Aeroporto Internacional de Confins. ROD = esgoto do Terminal Rodoviário Governador Israel Pinheiro. SCH01 = esgoto do shopping Diamond Mall. SHC02 = esgoto do shopping Oiapoque. UNI = esgoto do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG).

Figura 5.11 – Evolução temporal das concentrações do RNA do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos dos locais públicos e das ETEs

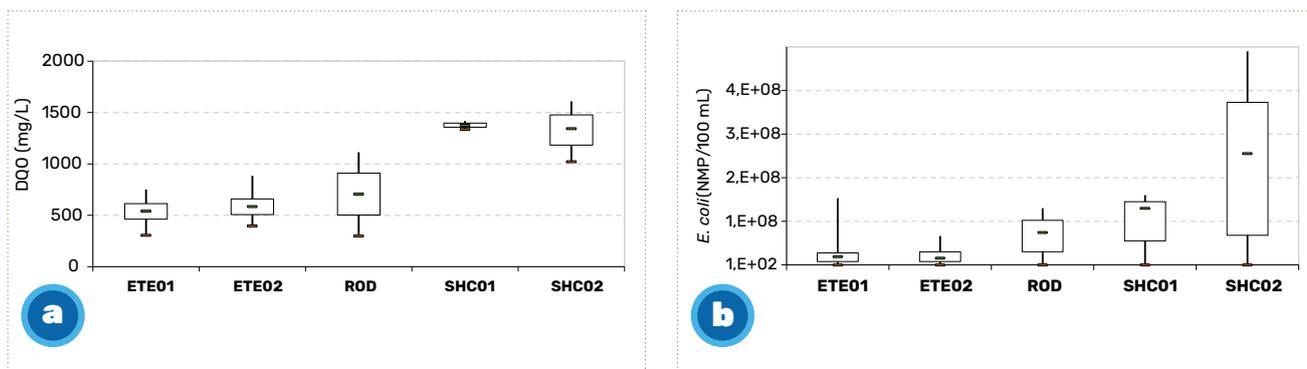
Na análise temporal, as amostras do AER também foram as que apresentaram maior correspondência nas oscilações das concentrações do material genético do vírus com as amostras das ETEs da cidade de Belo Horizonte (Figura 5.11a). Assim, infere-se que, entre os locais selecionados, o AER é o que apresentou maior potencialidade de ser utilizado como um ponto de monitoramento para alerta, considerando que se trata de um hotspot, dada a elevada circulação de pessoas procedentes de diversas localidades. É interessante notar que o número de pessoas circulantes no Aeroporto e no Terminal Rodoviário Governador Israel Pinheiro foram próximos no período de monitoramento (Figura 5.10), mas a frequência de positividade e as concentrações do SARS-CoV-2 foram menores na ROD que no AER (Tabela 5.5, Figura 5.11a,b). É importante salientar que todas as coletas foram realizadas no período da manhã, entre 8h30 e 12h30. No caso do AER, as amostras provenientes de sua ETE representam o público em geral, pois há inclusão dos esgotos das aeronaves. Porém, no caso da ROD, pode ser que as amostras não foram representativas do efetivo padrão de circulação de pessoas, e, assim, coletas de amostras durante os períodos

de maior trânsito de embarque e desembarque (antes das 09 h e após às 17 h) poderiam ser mais adequadas para o monitoramento local.

O monitoramento do RNA do SARS-CoV-2 no esgoto dos shoppings e do instituto universitário pode ser usado para indicar se pessoas infectadas estariam circulando nesses locais ou entre os trabalhadores desses locais. É importante destacar que as análises das concentrações de DQO e *E. coli* dos esgotos da rodoviária e dos shoppings indicaram a presença de matéria orgânica e material fecal em ordens de grandeza semelhantes às do esgoto afluente às ETEs da cidade (Figura 5.12). Portanto, as menores concentrações do vírus no esgoto sanitário dos locais selecionados em relação ao esgoto que chega às ETEs da cidade provavelmente se associam mais ao perfil de saúde das pessoas que frequentam esses locais do que à eventual natureza não doméstica dos esgotos gerados. Uma hipótese é que as pessoas contaminadas sintomáticas frequentem menos esses locais do que as pessoas não contaminadas e assintomáticas em relação à população em geral. As baixas concentrações no instituto universitário (Figura 5.11d) pro-

vavelmente também são devido à menor frequência de pessoas contaminadas sintomáticas, mas cabe destacar que o número de frequentadores de forma

geral também foi reduzido (Figura 5.10) e, portanto, as cargas de esgotos são baixas para a representação da população em geral.



ETE01 = esgoto afluyente à ETE Arrudas. ETE02 = esgoto afluyente à ETE Onça. ROD = esgoto do Terminal Rodoviário Governador Israel Pinheiro. SCH01 = esgoto do shopping Diamond Mall. SHC02 = esgoto do shopping Oiapoque. Nota: não foram obtidas essas análises para o esgoto afluyente à ETE do Aeroporto de Confins e para o esgoto do ICB/UFMG.

Figura 5.12 – Concentrações de DQO e E. coli nos esgotos das ETEs, rodoviária e shoppings

Nos estudos de Prado *et al.* (2021) e Mota *et al.* (2021) as concentrações do material genético do SARS-CoV-2 foram, em geral, semelhantes entre os esgotos coletados das redes coletoras de bairros e das ETEs abrangendo os locais de coleta. Assim, o monitoramento regionalizado de sub-bacias de esgotamento sanitário, representando diferentes bairros e áreas da cidade, se mostra uma ferramenta mais adequada para auxiliar no controle epidemiológico em escala municipal. Já o monitoramento dos esgotos de locais com grande circulação de pessoas pode revelar possíveis infectados entre as pessoas que circulam ali e, principalmente, entre os que trabalham e permanecem mais tempo nesses locais. Portanto, o monitoramento destes locais pode ser usado como ferramenta de vigilância para antecipar possíveis surtos, direcionar e aumentar a testagem entre as pessoas do local. Ainda, no caso do aeroporto, as concentrações de RNA viral apresentaram tendências similares às encontradas nos esgotos afluentes às ETEs e picos coincidentes ou antecipados ao aumento do número de casos suspeitos de COVID-19 na cidade de Belo Horizonte, conforme abordado adiante, no item 5.3.3.

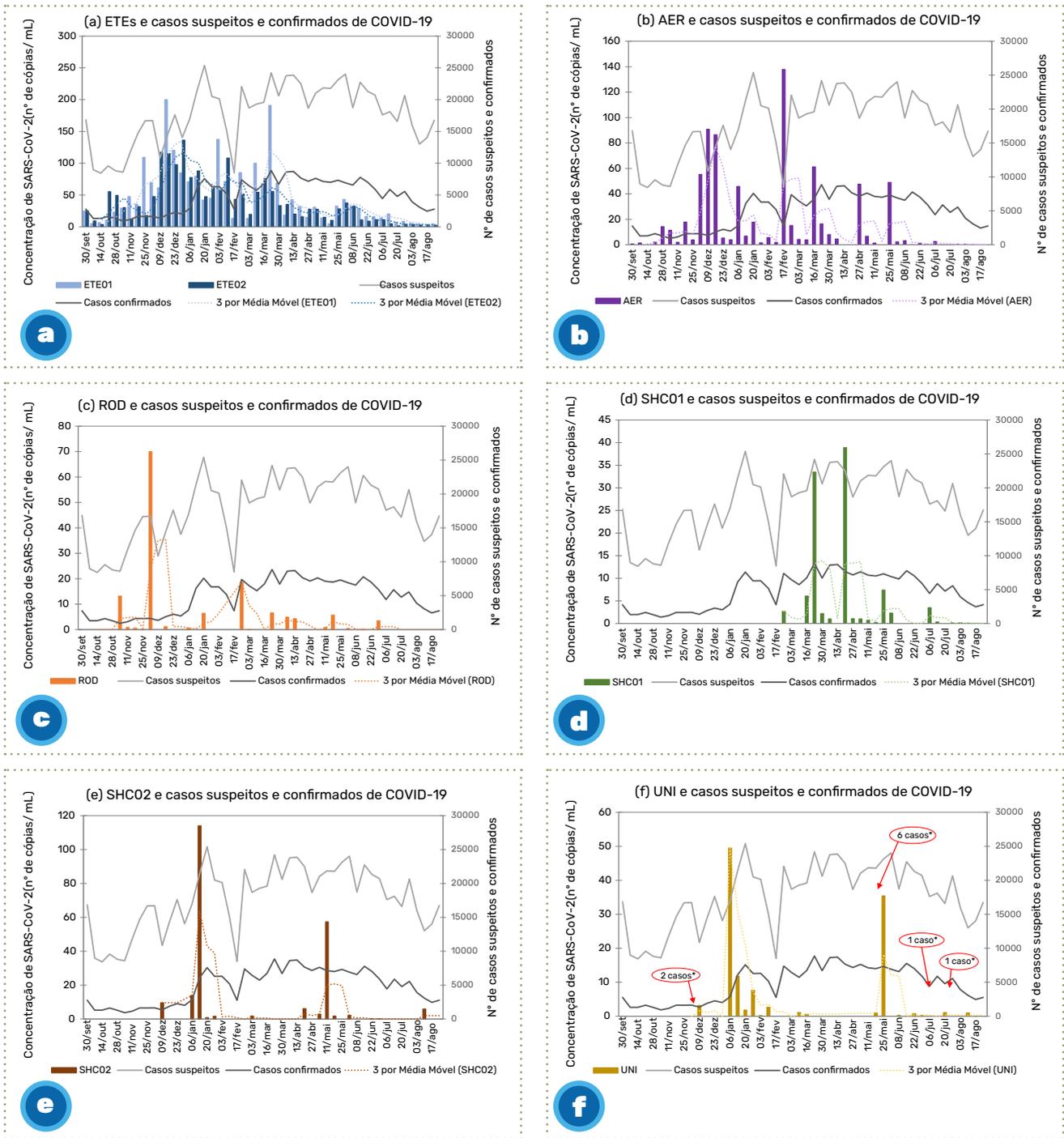
5.3.3 Relação entre a concentração do material genético do SARS-CoV-2 nos esgotos dos locais selecionados e o número de casos de COVID-19 na cidade

Conforme apresentado nos Capítulos 3 e 4, há uma relação entre a concentração ou carga viral nos esgotos das ETEs e nos esgotos coletados das redes coletoras em diferentes sub-bacias e o número de casos de COVID-19, sendo que, em geral, o aumento do vírus nos esgotos antecederam ao aumento da

notificação do número de casos. Assim, avaliou-se se o monitoramento dos esgotos dos locais selecionados, onde há grande circulação de pessoas, também poderia de certa forma refletir a situação epidemiológica da cidade. Na Figura 5.13 são mostrados os valores da concentração do material genético do SARS-CoV-2 nos esgotos e o número de casos suspeitos e confirmados de COVID-19 em Belo Horizonte. Observa-se que no período avaliado a evolução dos casos seguiu as tendências do quadro nacional, que pode ser visualizada no site Worldometer: <https://www.worldometers.info/coronavirus/country/brazil/>.

O ponto correspondente à ETE do Aeroporto Internacional de Confins assim como os pontos correspondentes às ETEs Arrudas e Onça, que representam as grandes bacias de esgotamento sanitário de Belo Horizonte, apresentaram picos nas concentrações de SARS-CoV-2 em determinados períodos, como meados de dezembro de 2020 e fevereiro e março de 2021, que antecederam aos picos de casos suspeitos de COVID-19. Isso sugere que, além do monitoramento dos pontos das ETEs Arrudas e Onça, o monitoramento do AER pode servir como um alerta para a situação da região. Em relação aos demais locais monitorados, porém, não se observou uma relação entre as concentrações virais e o número de casos de COVID-19 na cidade.

Assim, o monitoramento do vírus nos esgotos do AER pode refletir a situação epidemiológica regional e eventualmente dar um indicativo da nacional, uma vez que o aeroporto de Confins (CNF) é um importante hub para conexões e voos ligando as diversas regiões do país. Mas, para uma análise em nível nacional, seria interessante que o monitoramento fosse realizado também em outros aeroportos.



LD = limite de detecção do método. ETE01 = esgoto afluente à ETE Arrudas. ETE02 = esgoto afluente à ETE Onça. AER = esgoto afluente à ETE do Aeroporto Internacional de Confins. ROD = esgoto do Terminal Rodoviário Governador Israel Pinheiro. SCH01 = esgoto do shopping Diamond Mall. SHC02 = esgoto do shopping Oiapoque. UNI = esgoto do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG). *No UNI, foram reportados 2 casos em 04/12/2021, um surto de cerca de 6 casos entre 15/05/2021 e 27/05/2021, 1 caso em 12/07 e 1 caso em 22/07.

Figura 5.13 – Concentrações do RNA do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos e número de casos suspeitos e confirmados de COVID-19 em Belo Horizonte ao longo do período de monitoramento

Para todos os pontos de monitoramento, nota-se uma tendência de declínio nas concentrações virais nos últimos três meses de monitoramento (a partir de 08/06/2021). Tal tendência se seguiu em relação ao número de casos suspeitos e confirmados de COVID-19 a partir de 15/06/2021 (Figura

5.13).

Os picos nas concentrações virais nas amostras dos shoppings – SHC01 em 23/03/21 e 20/04/21, e SHC02 em 12/01/21 e 11/05/21 – ocorreram em períodos quanto todas as atividades não essenciais

foram suspensas e, portanto, a circulação de pessoas foi restrita. Assim, provavelmente o aumento nas concentrações ocorreram pela presença de infectados entre os funcionários (trabalhando com atendimento interno e delivery). Especificamente para o instituto universitário ICB/UFMG (UNI), conseguiu-se obter dados sobre notificações de casos internos de COVID-19. O surto reportado de aproximadamente 6 casos entre 15 e 27 de maio de 2021 coincidiu com a detecção do material genético do vírus no esgoto no dia 18/05 e seu expressivo aumento da concentração no dia 25/05 (Figura 5.13f). Não foram obtidas informações sobre casos no início de janeiro de 2021, quando também as concentrações virais no esgoto deste local foram aumentadas. Assim, atenta-se para a possibilidade de monitoramento dos esgotos em locais frequentados por um público em grande parte fixo (ex.: institutos universitários, academias, clubes) como uma ferramenta de vigilância para detecção de pessoas infectadas, em que aumentos nas concentrações do material genético do SARS-CoV-2 podem auxiliar na tomada de decisões. Tal estratégia foi adotada por Betancourt *et al.* (2021), que monitoraram a presença de SARS-CoV-2 no esgoto de um dormitório universitário. A detecção do SARS-CoV-2 no esgoto, quando acima do LD, levou à testagem clínica dos residentes, resultando na identificação e isolamento das pessoas contaminadas. Scott *et al.* (2021) também encontraram certa correspondência entre as concentrações do SARS-CoV-2 no esgoto de dormitórios universitários e o número de casos de COVID-19 no campus da referida universidade.

5.3.4 Conclusões

Dentre os locais de grande circulação de pessoas selecionados – aeroporto internacional, terminal rodoviário, dois shoppings e um centro universitário – o monitoramento dos esgotos do aeroporto (AER) mostrou maior potencial de ser usado como ferramenta complementar de vigilância epidemiológica, em que foi observada alta frequência de positividade do vírus nas amostras. Dada a elevada circulação de pessoas procedentes de diversas localidades, bem como a importância do aeroporto como local de conexão entre as diferentes regiões do país, esse monitoramento contribui para a percepção da situação epidemiológica regional e pode dar indicativos da situação em nível nacional, nesse caso especialmente se também fossem monitorados outros aeroportos.

A menor frequência de positividade e as menores concentrações virais foram observadas nas amostras de esgoto correspondente ao ponto da rodoviária (ROD). A execução de amostragem durante os períodos de maior trânsito de embarque e

desembarque (antes das 09 h e após às 17 h) poderia ser mais adequada para o monitoramento local.

Em geral, as concentrações do material genético do SARS-CoV-2 nos esgotos dos shoppings (SHC01 e SHC02) e do instituto universitário (UNI) foram bem menores que nos esgotos afluentes às ETEs. Uma hipótese é que as pessoas circulantes não representem de forma fidedigna a população em geral uma vez que os contaminados sintomáticos provavelmente apresentam padrão de comportamento diferenciado, frequentando menos esses tipos de locais. Verificou-se nos shoppings que as maiores concentrações do material genético do vírus foram em períodos que as atividades não essenciais foram suspensas na cidade, indicando a presença de infectados entre os funcionários locais. No caso do instituto universitário, onde o público é em parte fixo, verificou-se que, o aumento nas concentrações do RNA viral nos esgotos coincidiu com os casos reportados de COVID-19 no instituto. Assim, o monitoramento de locais específicos pode ser usado como ferramenta de vigilância para detecção de infectados, auxiliando no controle epidemiológico local, direcionando ações de testagem e de rastreamento dos contatos entre os frequentadores, sobretudo os fixos.

5.3.5 Referências

- AHMED, W.; BERTSCH, P.; ANGEL, N.; BIBBY, K.; BIVINS, A.; DIERENS, L.; EDSON, J.; EHRET, J.; GYAWALI, P.; HAMILTON, K.; HOSEGOOD, I.; HUGENHOLTZ, P.; JIANG, G.; KITAJIMA, M.; SICHANI, H.; SHI, J.; SHIMKO, K.; SIMPSON, S.; SMITH, W.; SYMONDS, E.; THOMAS, K.; VERHAGEN, R.; ZAUGG, J.; MUELLER, J. Detection of SARS-CoV-2 RNA in commercial passenger aircraft and cruise ship wastewater: a surveillance tool for assessing the presence of COVID-19 infected travellers. **Journal of Travel Medicine**, 27(5), 2020. DOI: 10.1093/jtm/taaa116.
- ARAÚJO, J. C.; MOTA, V. T.; TEODORO, A.; LEAL, C.; LEROY, D.; MADEIRA, C.; MACHADO, E. C.; DIAS, M. F.; SOUZA, C. C.; COELHO, G.; BRESSANI, T.; MORANDI, T.; FREITAS, G. T. O.; DUARTE, A.; PERDIGÃO, C.; TRÖGER F., AYRIMORAES, S.; MELO, M. C.; LAGUARDIA, F.; REIS, M. T. P.; MOTA, C.; CHERNICHARO, C. A. L. Long-term monitoring of SARS-CoV-2 RNA in sewage samples from specific public places and STPs to track COVID-19 spread and identify potential hotspots. **Science of the Total Environment**, 2022. DOI: HYPERLINK "https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155959"10.1016/j.scitotenv.2022.155959.
- BETANCOURT, W. Q.; SCHMITZ, B. W.; INNES, G. K.; PRASEK, S. M.; BROWN, K. M. P.; STARK, E. R.; FOSTER, A. R.; SPRISSELER, R. S.; HARRIS, D. T.; SHERCHAN, S. P.; GERBA, C. P.; PEPPER, I. L. COVID-19 containment on a college campus via wastewater-based epidemiology, targeted clinical testing and an intervention. **Science of The Total Environment**, v. 779, 146408. 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.146408.
- CDC. Center for Disease Control and Prevention. 2019–Novel coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR panel primers and probes. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html> (accessed 12 May, 2020).
- HART, O. E.; HALDEN, R. U. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-



based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. **Science of The Total Environment**, v. 730, 138875. 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138875.

HONG, P. Y.; RACHMADI, A. T.; MANTILLA-CALDERON, D.; ALKAHTANI, M.; BASHAWRI, Y. M.; QARNI, H. A.; O'REILLY, K. M.; ZHOU, J. Estimating the minimum number of SARS-CoV-2 infected cases needed to detect viral RNA in wastewater: To what extent of the outbreak can surveillance of wastewater tell us? **Environmental Research**, v. 195, 110748, 2021. DOI: 10.1016/j.envres.2021.110748.

MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R.; BROUWER, A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. **Environmental Science & Technology Letters**, acs.estlett.0c00357, 2020. DOI: 10.1021/acs.estlett.0c00357.

MOTA, C. R.; BRESSANI-RIBEIRO, T.; ARAÚJO, J. C.; LEAL, C. D.; LEROY-FREITAS, D.; MACHADO, E. C.; ESPINOSA, M. F.; FERNANDES, L.; LEÃO, T. L.; CHAMHUM-SILVA, L.; AZEVEDO, L.; MORANDI, T.; FREITAS, G. T. O.; COSTA, M. S.; CARVALHO, B. O.; REIS, M. T. P.; MELO, M. C.; AYRIMORAES S. R.; CHERNICHARO, C. A. L. Assessing spatial distribution of COVID-19 prevalence in Brazil using decentralised sewage monitoring. **Water Research**, v. 202, 117388. 2021. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117388.

PRADO, T.; FUMIAN, T. M.; MANNARINO, C. F.; RESENDE, P. C.; MOTTA, F. C.; EPPINGHAUS, A. L. F.; VALE, V. H. C.; BRAZ, R. M. S.; ANDRADE, J. S. R.; MARANHÃO, A. G.; MIAGOSTOVICH, M. P. Wastewater-based epidemiology as a useful tool to track SARS-CoV-2 and support public health policies at municipal level in Brazil. **Water Research**, v. 191, 116810. 2021. DOI: 10.1016/j.watres.2021.116810.

SCOTT, L. C.; AUBEE, A.; BABAHAJI, L.; VIGIL, K.; TIMS, S.; AW, T. G. Targeted wastewater surveillance of SARS-CoV-2 on a university campus for COVID-19 outbreak detection and mitigation. **Environmental Research**, v. 200, 111374. 2021. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111374.



5.4. Monitoramento do SARS-CoV-2 em águas superficiais urbanas de Belo Horizonte como ferramenta epidemiológica para populações desprovidas de coleta e tratamento de esgotos

A vigilância ambiental de patógenos de interesse realizada via monitoramento de esgotos domésticos é uma ferramenta de saúde pública conhecida e recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2020). No contexto da pandemia de COVID-19, a vigilância ambiental do SARS-CoV-2 por meio da quantificação do material genético do SARS-CoV-2 em esgoto doméstico tem sido uma importante ferramenta epidemiológica no Brasil e no mundo, que tem gerado informações complementares aos testes clínicos, incluindo a identificação de tendências na disseminação e circulação do vírus na população, podendo ter papel fundamental nas decisões de controle e enfrentamento da pandemia. O monitoramento do esgoto doméstico pode ser, portanto, considerado um elemento chave para o conhecimento da condição de saúde da população atendida pela rede de coleta e tratamento. O uso do monitoramento do esgoto para tal fim denomina-se vigilância epidemiológica baseada em esgotos (em inglês: Wastewater-Based Epidemiology, ou WBE).

Entretanto, na maioria das cidades de países em desenvolvimento, incluindo Belo Horizonte, as redes de coleta e tratamento de esgotos não atendem 100% da população. Segundo o diagnóstico realizado em 2019 pelo Ministério do Desenvolvimento Regional brasileiro (SNIS, 2020), estima-se que apenas 49% do total dos esgotos domésticos gerados no território brasileiro é tratado, o restante é usualmente lançado em corpos d'água de maneira difusa, sem nenhum tipo de tratamento. A ausência de rede coletora e interceptores capazes de receber todo o esgoto doméstico de uma determinada população, além de gerar sérios riscos à saúde pública, também gera desafios para a vigilância epidemiológica baseada em esgotos, principalmente com relação à representatividade da população atendida. Portanto, em cidades com deficiências nas coberturas de coleta e tratamento de esgoto, o monitoramento das águas superficiais locais pode gerar informações valiosas sobre a circulação do SARS-CoV-2 em populações desprovidas de rede e tratamento de esgoto. A grande maioria das pessoas desprovidas desses serviços essenciais vive em condições de maior vulnerabilidade social, sanitária e ambiental, e têm, portanto, acesso reduzido aos serviços de cuidado da saúde, têm menor representatividade nos testes clínicos para COVID-19, vivem em domicílios com menor área e maior número de moradores e são usuários de serviços públicos de transporte. Todos esses fatores elevam expressivamente os riscos dessas pessoas de contrair a COVID-19.

O RNA do SARS-CoV-2 foi detectado em águas superficiais de bacias hidrográficas com baixa cobertura de tratamento de esgotos em São Paulo (RAZZOLINI *et al.*, 2021), Equador (GUERRERO-LATORRE *et al.*, 2020) e no México (ROSILES-GONZÁLEZ *et al.*, 2021), e em águas superficiais em locais com elevada cobertura de tratamento de esgotos, como na Itália (Rimoldi *et al.*, 2020). Em um estudo no Japão (HARAMOTO *et al.*, 2020), o SARS-CoV-2 não foi detectado em águas superficiais em local com elevada cobertura de rede e tratamento de esgoto. Ainda há poucos estudos disponíveis relacionados ao monitoramento do SARS-CoV-2 em águas superficiais.

É importante salientar que o presente Boletim não aborda questões relacionadas à possibilidade de transmissão da COVID-19 por águas contaminadas, seja via aerossóis ou rotas feco-orais. Este tema é relevante, tem sido discutido (Heller *et al.*, 2020) e continua sendo objeto de investigações. Porém, até o presente momento, não há nenhuma evidência de transmissão da COVID-19 por águas contaminadas. O presente estudo focou na quantificação do RNA do SARS-CoV-2 em águas superficiais, principalmente para fins de vigilância epidemiológica de populações desprovidas de rede e tratamento de esgoto.

É importante distinguir entre a detecção do RNA e do vírion do SARS-CoV-2. O RNA do vírus é seu material genético, que contém todas as informações necessárias para sua replicação. Porém, o RNA do vírus é incapaz de causar infecção. O vírion é a forma infectante do vírus (Figura 1A) e possui toda sua estrutura íntegra (envelope, capsídeo e material genético - RNA). Apesar do vírion ter tropismo pelo sistema respiratório, ele também pode infectar células do sistema digestivo. Por esse motivo, alguns estudos conseguiram isolar o vírion em fezes (XIAO *et al.*, 2020) e urina (SUN *et al.*, 2020) de pessoas infectadas e, a partir daí, levantou-se a possibilidade de transmissão via feco-oral. Entretanto, mesmo com o avançar da epidemia da COVID-19, até o presente momento, não existem registros do isolamento do vírion em matrizes ambientais como esgotos domésticos, águas superficiais ou subterrâneas (Haas *et al.*, 2021). Essa ausência de trabalhos científicos pode ser um forte indicativo de que o vírion do SARS-CoV-2 quando eliminado via fezes, urina e secreções é rapidamente degradado, possivelmente pela presença de detergentes e desinfetantes presentes no esgoto doméstico. Isso significa que, provavelmente, o vírion se encontra na sua forma defectiva e/ou degradada (Fig 5.14) nessas matrizes, impossibilitando-o de causar infecção.

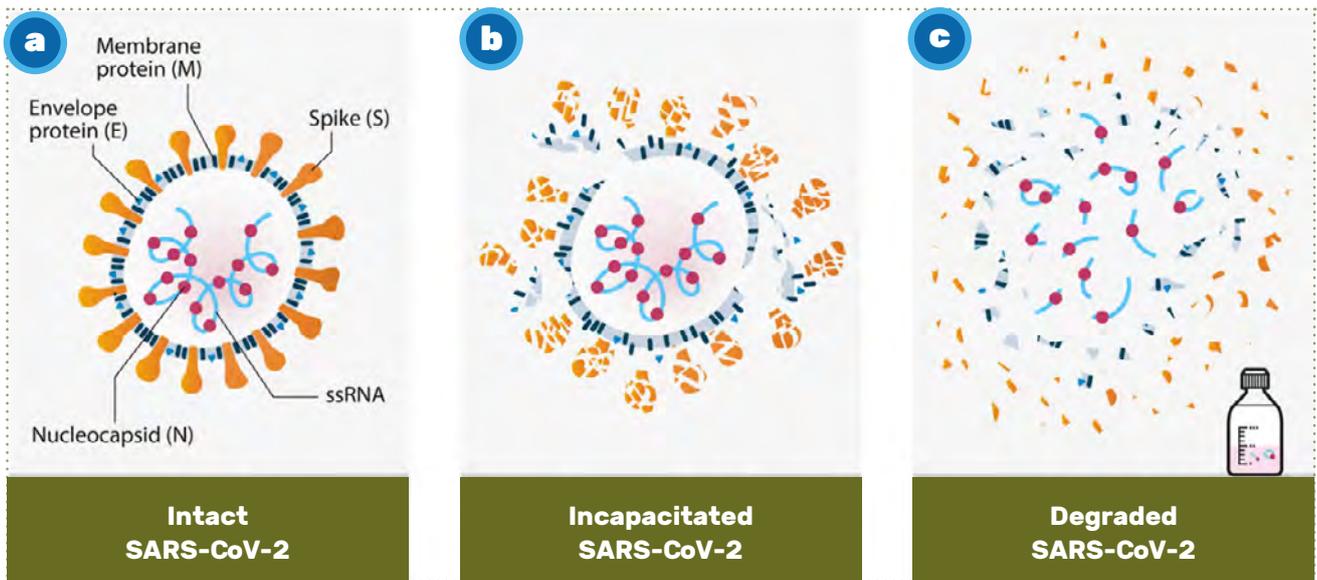


Figura 5.14 – formas estruturais do vírion (A), vírus deficiente (B) e vírus degradado (C) Adaptado (Hill et al., 2021)

O presente estudo teve como base as seguintes perguntas norteadoras e informações complementares:

Tabela 5.6 - Perguntas norteadoras e informações complementares que serviram de base para o presente estudo.

PERGUNTAS NORTEADORAS	INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES
O RNA do SARS-CoV-2 pode ser detectado nas águas superficiais urbanas de Belo Horizonte durante a pandemia COVID-19?	Estima-se que aproximadamente 12% da população de Belo Horizonte lança seu esgoto nos córregos e rios da cidade sem nenhum tratamento (PMS-BH 2020-2023)
Qual é a contribuição das cargas de SARS-CoV-2 nos ribeirões e rios de Belo Horizonte advindas do descarte de esgotos tratados nas estações de tratamento e como essas cargas se comparam às cargas de SARS-CoV-2 já presentes nesses corpos hídricos (advindas do aporte de esgoto bruto de populações desprovidas de coleta e tratamento de esgoto)?	As ETEs de Belo Horizonte (ETE Arrudas e ETE Onça) não contam com unidades de tratamento projetadas e operadas especificamente para a remoção de SARS-CoV-2 e outros patógenos, sejam eles bacterianos ou virais. Porém, ambas ETEs podem atingir remoções passivas de partículas virais presentes no esgoto bruto
Qual é a contribuição das cargas de SARS-CoV-2 no Rio das Velhas advindas dos ribeirões Arrudas e Onça?	O Rio das Velhas é um dos mais importantes rios da região, fonte de água para abastecimento de milhões de pessoas (principalmente a montante da confluência com os ribeirões Arrudas e Onça), tributário do Rio São Francisco
Com base no monitoramento do SARS-CoV-2 em águas superficiais de Belo Horizonte, como foi a dinâmica epidemiológica da COVID-19 em populações desprovidas de rede e tratamento de esgoto comparada às populações que contam com ambos os serviços básicos de saneamento, avaliada com base no monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto afluente às ETEs de BH?	A grande maioria das pessoas desprovidas de coleta e tratamento de esgoto vive em condições de maior vulnerabilidade social, sanitária e ambiental, e têm, portanto, maior risco de contrair a COVID-19. Além disso, essas pessoas têm menor acesso a serviços de saúde e menor representatividade nos testes clínicos para COVID-19. O monitoramento do SARS-CoV-2 em águas superficiais pode gerar informações valiosas sobre a circulação do vírus em populações vulneráveis, que contribuem com esgoto bruto às águas superficiais

5.4.1 Metodologia

5.4.1.1 Identificação dos pontos de amostragem

A cidade de Belo Horizonte está inserida na região do Alto Rio das Velhas e subdivida em quatro regiões fisiográficas: Onça, Isidoro, Arrudas e Velhas

(Figura 5.15). Os pontos de amostragem de águas superficiais escolhidos para o monitoramento da população sem tratamento de esgoto estão representados no mapa da Figura 2. Na Tabela 5.7, apresenta-se a identificação e localização geográfica de cada ponto.

Tabela 5.7 - Identificação e características dos pontos de amostragem contemplados no estudo

IDENTIFICAÇÃO	DESCRIÇÃO	LATITUDE (S)	LONGITUDE (W)
RV-1	Rio das Velhas, a montante da foz Ribeirão Arrudas	-19°53'22"	-43°49'48"
RA-M-ETE	Montante ETE Arrudas, ribeirão Arrudas	-19°54'19"	-43°43'11"
RA-J-ETE	Jusante ETE Arrudas, Ribeirão Arrudas próximo de sua foz no Rio das Velhas	-19°53'42"	-43°51'43"
RV-2	Rio das Velhas, a jusante da foz do Ribeirão Arrudas	-19°52'05"	-43°52'13"
RV-3	Rio das Velhas, a jusante da foz do Ribeirão do Onça	-19°46'14"	-43°52'02"
RO-M-ETE	Ribeirão do Onça, a montante da ETE Onça e a jusante da confluência com o córrego do Isidoro	-19°49'15"	-43°54'03"
RO-J-ETE	Ribeirão do Onça, a jusante da ETE Onça e próximo da foz do Ribeirão Onça no Rio das Velhas	-19°48'44"	-43°53'28"
CI-M-ETE	Córrego Isidoro, próximo à sua foz no Ribeirão Onça	-19°49'18"	-43°54'03"
RO-M-CI	Ribeirão do Onça a montante da Confluência com o Córrego do Isidoro	-19°50'02"	-43°54'20"
A-ETE-A/ E-ETE-A	Afluente (esgoto bruto) e efluente (esgoto tratado) da ETE Arrudas	-19°53'45"	-43°52'49"
A-ETE-O/ E-ETE-O	Afluente (esgoto bruto) e efluente (esgoto tratado) da ETE Onça	-19°49'26"	-43°53'36"

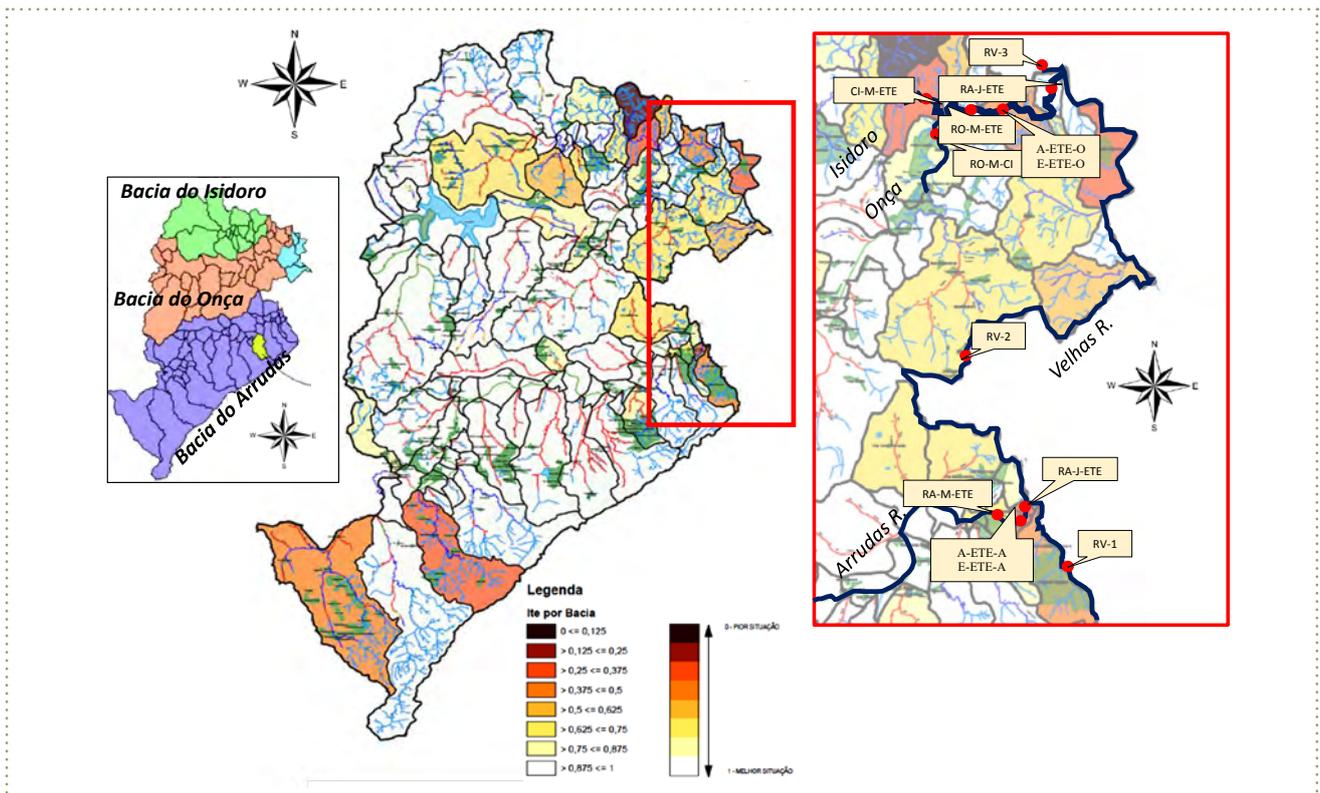


Figura 5.15 – Identificação dos pontos de amostragem de águas superficiais.

5.4.1.2 Informações sobre atendimento por tratamento de esgoto nas populações residentes nas sub-bacias monitoradas

Os dados de população total, área e população sem tratamento de esgoto foram tomados a partir do Plano Municipal de Saneamento da Prefeitura de BH

(PMS-BH 2020-2023) e são apresentados na Tabela 5.8. A Figura 5.16 apresenta o mapeamento do Índice de Tratamento de Esgoto nas diferentes sub-bacias de Belo Horizonte. A Tabela 5.9 apresenta as sub-bacias com baixo índice de tratamento de Esgoto (<0.7) segundo o PMS-BH 2020-2023.

Tabela 5.8 - Informações sobre as populações de Belo Horizonte servidas e não servidas por tratamento de esgoto nas diferentes sub-bacias monitoradas

SUB-BACIA	ÁREA (M2)	POPULAÇÃO TOTAL (HAB)	POPULAÇÃO SEM TRATAMENTO DE ESGOTOS (HAB)	% POPULAÇÃO SEM TRATAMENTO DE ESGOTO
Arrudas ⁽¹⁾	16.318	1.298.212	131.119	10,1%
Onça ⁽²⁾	10.215	730.102	67.169	9,2%
Isidoro ⁽³⁾	5.511	445.554	91.339	20,5%
R. das Velhas	963	38.202	13.715	35,9%
Total	33.007	2.512.070	303.342	12,1%

⁽¹⁾População de Belo Horizonte que contribui com esgoto para a ETE Arrudas: 1.160.488.

⁽²⁾População de Belo Horizonte que contribui com esgoto para a ETE Onça: 1.084.779.

⁽³⁾A população residente na bacia do Isidoro que tem serviço de coleta e tratamento de esgoto, tem seu esgoto tratado na ETE Onça. Portanto, a população total desprovida de coleta e tratamento de esgoto na sub-bacia do Onça é estimada em 158.508 (13,5% da população total da sub-bacia).



Tabela 5.9 - Sub-bacias com baixo índice de tratamento de Esgoto (<0.7)

SUBSISTEMA	SUB-BACIA	POPULAÇÃO RESIDENTE NA SUB-BACIA (HAB)	ITE
Arrudas	Bonsucesso	50376	0.323
	Av.Andradas (Caetano Furquim)	1417	0.360
	Jatobá	168717	0.435
	Córrego Olaria (Taquaril)	21031	0.466
	Av.Andradas (Vera Cruz)	7975	0.637
	Itaituba	29725	0.652
	Santa Inês (R.Concei.Pará)	17777	0.656
Isidoro	Córrego do Sumidouro	1577	0.363
	Córrego dos Macacos	7638	0.014
	Embira	37589	0.520
	Córrego do Nado	123380	0.635
	Córrego do Caixeta	9036	0.695
Onça	Cór. J.Correia c/ Tamanduá	4999	0.448
	Córrego do Angu	292	0.510
	Gorduras (Av. Belmonte)	72328	0.640
	Cebola	397	0.656
Velhas	Conjunto Capitão Eduardo	4395	0.259
	Córrego do Espia	4851	0.511

5.4.1.3 Amostragem e processamento das amostras

O período amostral ocorreu entre agosto e novembro de 2020. As coletas de águas superficiais foram realizadas semanalmente nas segundas-feiras em quatro pontos na bacia Ribeirão Arrudas (MEA, JEA, RV-1 e RV-2). Nas quartas-feiras foram coletadas amostras de águas superficiais em seis pontos na bacia do Ribeirão Onça (CI-M-ETE, RO-M-CI, RO-M-ETE, RO-J-ETE, RV-2 e RV-3). As amostras de águas superficiais foram manualmente coletadas no período da manhã, de forma composta em 7 frascos de vidro âmbar de 1 L, totalizando um volume de 7 litros ao final da amostragem. A composição das amostras foi realizada tomando uma alíquota de 1 L a cada 30 minutos entre 9hrs e 12hrs. As amostras foram conservadas em gelo até seu processamento no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Minas Gerais. A temperatura da água e o pH foram medidos *in loco*. As amostras de afluente (esgoto bruto, A-ETE-A e A-ETE-O) e efluente (esgoto tratado, E-ETE-A e E-ETE-O) das ETES Arrudas e Onça foram monitoradas pelo Projeto Piloto, tomando amostras compostas em 24 h, utilizando amostradores automáticos.

No laboratório, as amostras foram submetidas à análise para detecção e quantificação do SARS-CoV-2 (utilizando a região alvo N1) por RT-qPCR, seguindo a metodologia descrita na nota técnica *Metodologia para concentração do novo coronavírus em amostras de água e esgoto por técnicas moleculares* (<https://www.gov.br/ana/pt-br/assuntos/acontece-na-ana/monitoramento-covid-esgotos/boletins-monitoramento-covid-esgotos/nota-tecnica-no-022020.pdf>)

5.4.1.4 Determinação das vazões dos corpos hídricos

As vazões dos corpos hídricos foram medidas em campo por equipe do Instituto Mineiro de Gestão de Águas (IGAM) em campanha realizada no mês de agosto de 2020. As vazões dos córregos e rios medidas em campo e as vazões medidas nas ETES Arrudas e Onça (fornecidas pela COPASA) usadas para o cálculo das cargas virais são apresentadas nas Tabelas 5.10 e 5.11, respectivamente. Análise de dados históricos de vazão coletados pela Prefeitura de Belo Horizonte revelou que as variações de vazão nos ribeirões Arrudas e Onça são muito baixas (<8%) entre os meses de agosto (mês em que foi realizada a campanha de medição de vazões em campo) e novembro (término do período de amostragem do presente estudo).

Tabela 5.10 - Vazões (L/s) medidas em campo

DATA	27/08/20	27/08/20	28/08/20	28/08/20	31/08/20	31/08/20
PONTO	RA-J-ETE	RV-1	RV-2	RV-3	CI-M-ETE	RO-J-ETE
Q (L/s)	3515	14948	15307	22357	856	5200

Tabela 5.11 - Vazões (L/s) usadas para a estimativa das cargas virais

SEMANA EPIDEMIOLÓGICA	DATA	A-ETE-A ⁽¹⁾	RA-J-ETE ⁽²⁾	RA-M-ETE ⁽³⁾	A-ETE-O ⁽¹⁾	RO-J-ETE ⁽⁴⁾	RO-M-ETE ⁽⁵⁾	CI-M-ETE	RO-M-CI ⁽⁶⁾	RV-1	RV-1	RV-1
33	10/08/2020	1904	3510	1606	1691	7050	5359	850	4509	11790	15300	22350
34	17/08/2020	1904	3510	1606	1691	7050	5359	850	4509	11790	15300	22350
35	24/08/2020	1894	3510	1616	1704	7050	5346	850	4496	11790	15300	22350
36	31/08/2020	2385	3510	1125	1713	7050	5337	850	4487	11790	15300	22350
37	07/09/2020	1899	3510	1611	1597	7050	5453	850	4603	11790	15300	22350
38	15/09/2020	2016	3510	1494	1718	7050	5332	850	4482	11790	15300	22350
39	21/09/2020	2020	3510	1490	1797	7050	5253	850	4403	11790	15300	22350
40	28/09/2020	1729	3510	1781	1795	7050	5255	850	4405	11790	15300	22350
41	05/10/2020	1819	3510	1691	1710	7050	5340	850	4490	11790	15300	22350
43	19/10/2020	1997	3510	1513	1701	7050	5349	850	4499	11790	15300	22350
45	03/11/2020	2202	3510	1309	1701	7050	5349	850	4499	11790	15300	22350
48	23/11/2020	1887	3510	1623	1701	7050	5349	850	4499	11790	15300	22350

⁽¹⁾ Vazão medida na ETE.

⁽²⁾ Usada a vazão medida em campo na campanha de agosto/2020.

⁽³⁾ Calculada como $Q_{RA-M-ETE-A} = 3510 - Q_{A-ETE-A}$.

⁽⁴⁾ Calculada como $Q_{RO-J-ETE} = Q_{RV-3} - Q_{RV-2}$.

⁽⁵⁾ Calculada como $Q_{RO-M-ETE} = Q_{RO-J-ETE} - Q_{A-ETE-O}$.

⁽⁶⁾ Calculada como $Q_{RO-M-CI} = Q_{RO-M-ETE} - Q_{CI-M-ETE}$.

5.4.1.5 Análise estatística dos resultados

Para a análise dos dados e comparação entre as concentrações de SARS-CoV-2 nos pontos de coleta foi realizado o teste de normalidade (Teste Shapiro-Wilk) a um nível de significância de 5%. Somente as medições nos pontos de coleta RA-M-ETE, RA-J-ETE, RV-1 e RV-3 apresentaram distribuição normal ($p > 0.05$), pelo qual foi aplicado um teste não paramétrico (H - Kruskal-Wallis) seguido de uma comparação por pares (Post-hoc de Dunn) para avaliar a existência de diferenças significativas ($p < 0.05$) entre os pontos de amostragem. As análises estatísticas foram realizadas utilizando a plataforma R (<https://www.r-project.org>).

5.4.2 Resultados

5.4.2.1 Concentrações e cargas do SARS-CoV-2 no ribeirão Arrudas

Dentre as 12 amostras coletadas na bacia do Arrudas, os percentuais de amostras positivas para SARS-CoV-2 foram de 92% em RA-M-ETE (montante ETE Arrudas) e 75% em RA-J-ETE (jusante ETE Arrudas). O efluente da ETE Arrudas (E-ETE-A), monitorado pelo Projeto Piloto, apresentou 58% de amostras positivas durante as mesmas semanas.

As concentrações de SARS-CoV-2 detectadas em RA-M-ETE e RA-J-ETE apresentaram médias entre

0 (não detectado) e 30,8 cópias/mL (Figuras 5.17a, 5.17b) entre as semanas 33 e 48 de 2020, com diferenças significativas entre os pontos monitorados ($H= 10,53$; $p=0,004$), entre os quais o ponto RA-M-E-TE apresentou as maiores concentrações (teste Post-hoc de Dunn). Em relação às cargas virais (Figura 5.17c), o aporte de cargas de SARS-CoV-2 da popula-

ção desprovida de rede e tratamento no ribeirão (RA-M-E-TE) foi significativamente maior que as cargas de SARS-CoV-2 do efluente da ETE RA-J-E-TE ($H= 10,31$; $p=0,005$), salientando o importante papel da ETE na remoção de cargas de SARS-CoV-2, mesmo na ausência de unidades de tratamento projetadas e operadas para a remoção de patógenos.

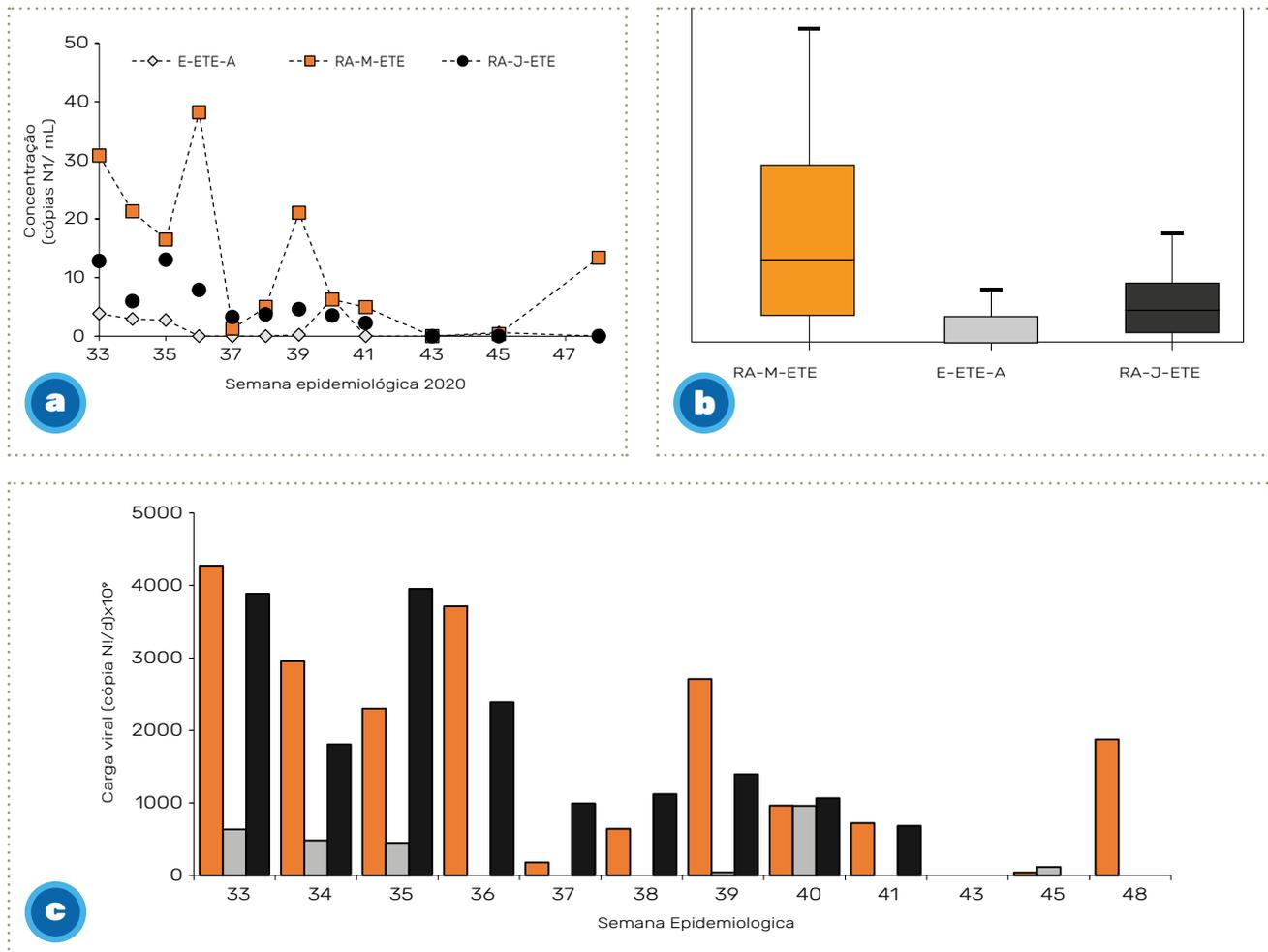


Figura 5.17 –(a) Série temporal e (b) Boxplots de concentrações do SARS-CoV-2 (cópias/mL) e (c) cargas virais medidas nos pontos de coleta localizados na sub-bacia do ribeirão Arrudas durante as semanas 32 e 48 de 2020

Durante todo o período de monitoramento, o Ribeirão Arrudas apresentou uma carga viral média de $1,7 \times 10^{12}$ cópias/d no ponto a montante da ETE (RA-M-ETE), valor menor que a carga média medida no efluente da ETE Arrudas ($1,4 \times 10^{12}$ cópias/d, E-ETE-A) indicando que a população desprovida de coleta e tratamento de esgoto, apesar de representar somente 10% da população da sub-bacia do Arrudas, contribuiu com uma parte significativa da carga viral lançada ao Ribeirão Arrudas e ressaltando a importância de atingir uma maior cobertura de serviços de coleta e tratamento de esgoto para garantir uma melhor qualidade microbiológica de águas superficiais urbanas.

5.4.2.2 Concentrações e cargas do SARS-CoV-2 no ribeirão Onça

Os percentuais de amostras positivas para SARS-CoV-2 nos pontos à montante da ETE Onça foram de 83% no Ribeirão do Onça antes da confluência com o Córrego do Isidoro (RO-M-CI), 92% no Córrego Isidoro (CI-M-ETE) e 83% no Ribeirão do Onça após a confluência com o Córrego do Isidoro (RO-M-ETE). Já no ponto a Jusante da ETE (RO-J-E-TE), 83% das amostras testaram positivo, enquanto 100% das amostras do efluente da ETE Onça (E-ETE-O) testaram positivo durante o mesmo período. As concentrações detectadas nos diferentes pontos monitorados na sub-bacia do ribeirão Onça apresentaram médias entre 7 e 52 cópias/mL (Figura 5.18a e 5.18b). Não houve diferenças significativas nas concentrações determinadas para os pontos monitorados na bacia do Onça ($H= 6,81$; $p=0,145$).

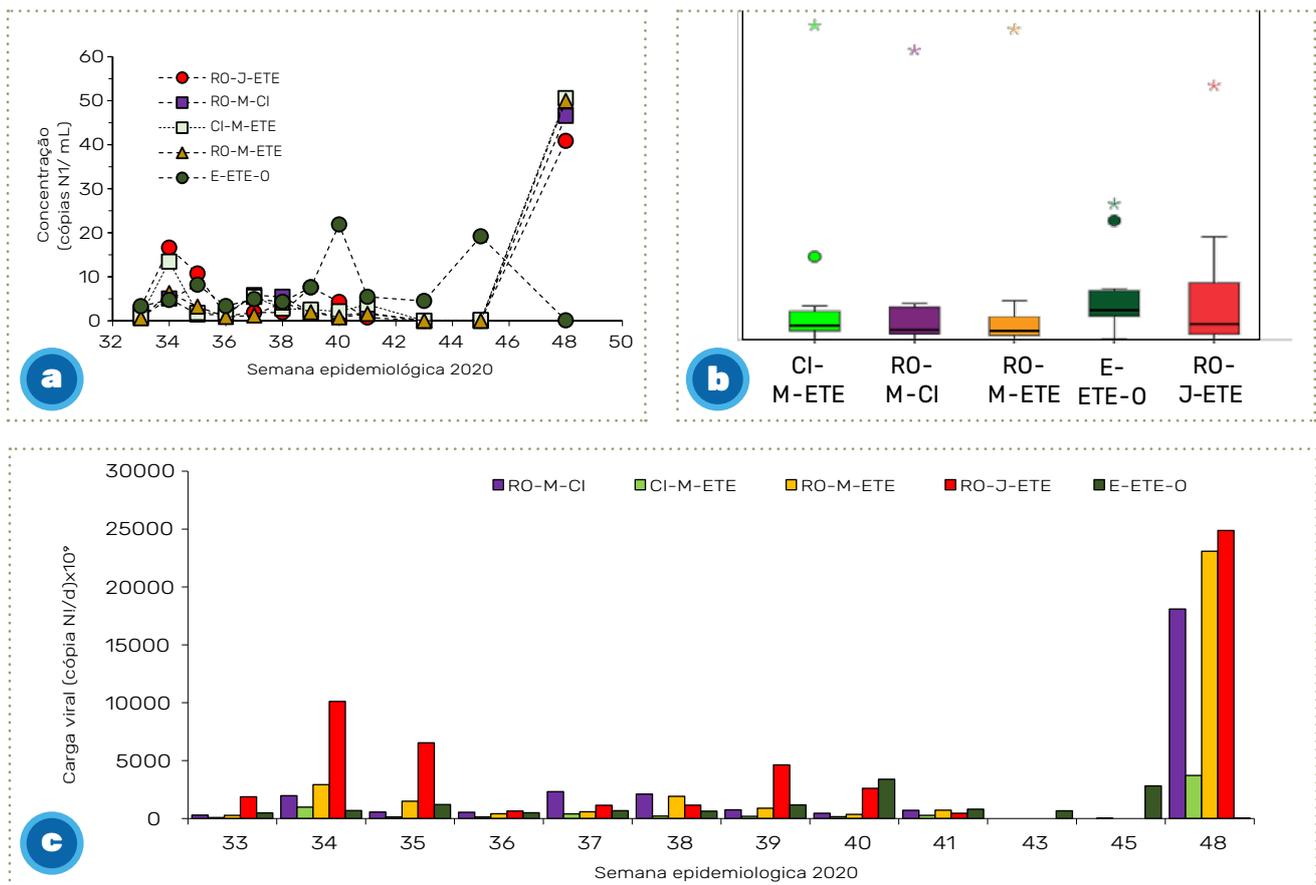


Figura 5.18 – (a) Série temporal e (b) Boxplots de concentrações do SARS-CoV-2 (cópia/mL) medidas nos pontos de coleta na sub-bacia do ribeirão do Onça durante as semanas 32 e 48 de 2020. (c) Cargas de SARS-CoV-2 por semana epidemiológica

Em relação às cargas, não foram detectadas diferenças significativas entre as cargas no ponto de jusante do descarte de efluente tratado da ETE Onça (RO-J-ETE), no ponto imediatamente a montante da ETE Onça (RO-M-ETE) e nos pontos à montante no córrego do Isidoro (CI-M-ETE) e no Ribeirão do Onça antes da confluência com o córrego Isidoro (RO-M-CI) ($H=9,213$, $p=0,055$). Isto indica que o descarte de efluente tratado da ETE Onça não teve impacto significativo nas cargas de SARS-CoV-2 no ribeirão Onça. A população desprovida de coleta e tratamento de esgoto, apesar de representar somente 13,5% da população da sub-bacia, contribuiu com uma carga média de SARS-CoV-2 RNA de $2,7 \times 10^{12}$ cópias/d medida em RO-M-ETE, valor maior em comparação ao efluente tratado da ETE Onça (E-ETE-O), que contribuiu em média com $1,1 \times 10^{12}$ cópias/d (Figura 5.18c).

5.4.2.3 Concentrações e cargas do SARS-CoV-2 no Rio das Velhas

A Figura 5.19 (a e b) apresenta os dados de concentração e carga para os pontos monitorados no Rio das Velhas durante o período compreendido entre as semanas 33 e 48 de 2020 (agosto até novembro de 2020). As concentrações de SARS-CoV-2 nos pontos RV-1, RV-2, RV-2o e RV-3 apresentaram médias entre 1 e 2 cópias/mL, que são valores muito menores do que aqueles observados nos ribeirões Arrudas e Onça. Isto destaca a

capacidade de diluição do Rio das Velhas. Não houve diferenças significativas entre as concentrações medidas nos diferentes pontos de amostragem do rio das Velhas ($H=2,114$; $p=0,5357$). Os percentuais de amostras positivas nos pontos RV-1, RV-2, RV-2o e RV-3 foram de 67%, 67%, 75% e 67%, respectivamente. Todas as amostras que testaram negativo se concentraram entre as semanas 41 a 48, e principalmente entre as semanas 43 e 45.

A contribuição média da carga (Figura 5.19b e 5.19d) de SARS-CoV-2 no Rio das Velhas advinda do Ribeirão Arrudas foi de $79\% \pm 28$ em comparação com o ponto de montante da confluência do Arrudas com o Rio das Velhas (RV-1), que contribuiu com $21\% \pm 28$ das cargas. A contribuição média do ribeirão Onça foi de $59\% \pm 27$, comparado ao aporte de carga presente no ponto a montante da confluência (RV-2o), que foi de $41\% \pm 27$.

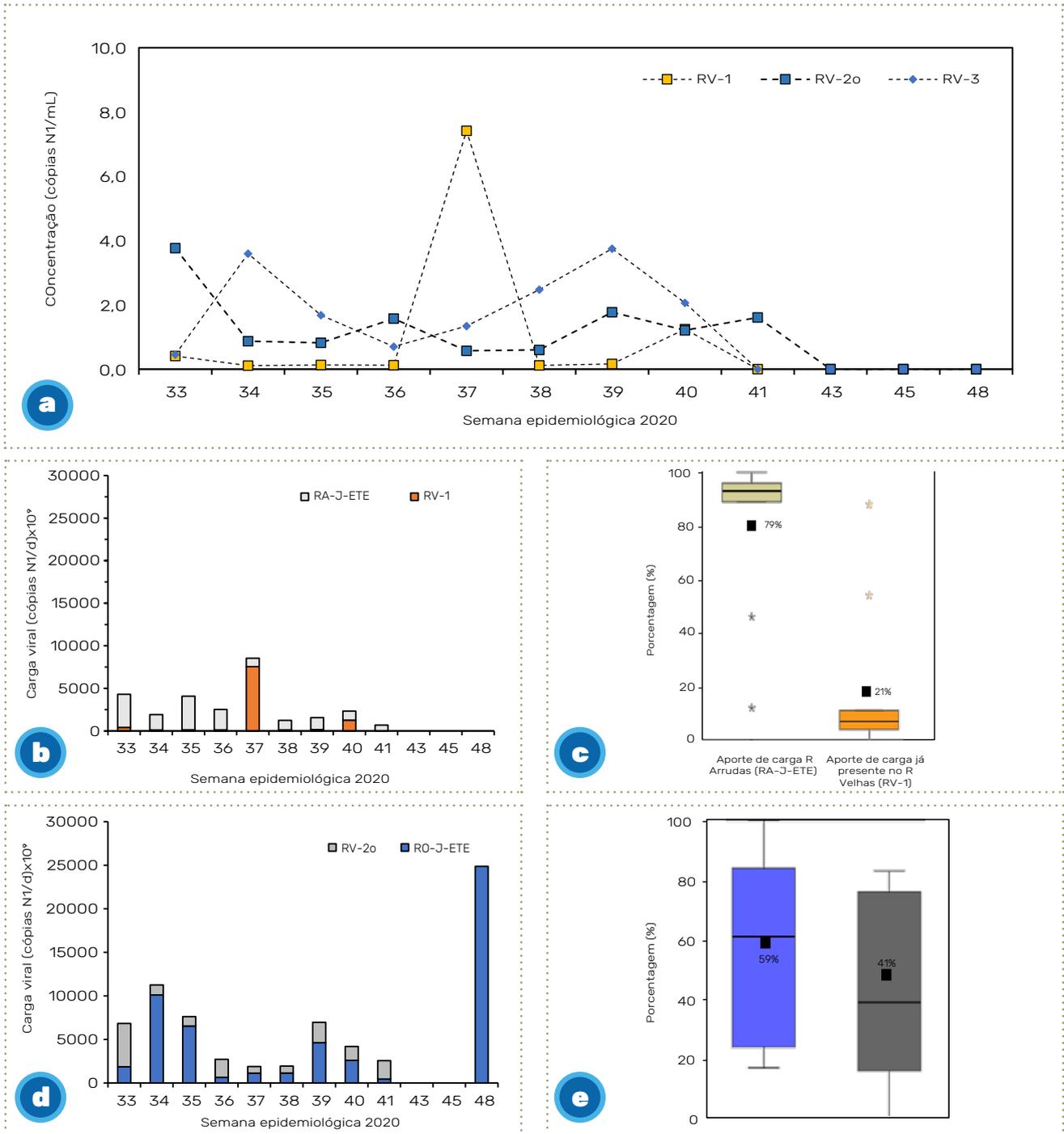


Figura 5.19 – (a) Concentrações do SARS-CoV-2 (cópias/mL) medidas nos pontos de coleta localizados na bacia do Rio das Velhas durante as semanas 32 e 48 de 2020. (b) Cargas virais e boxplots (c) comparando o aporte do ribeirão Arrudas e do ribeirão do Onça em relação às respectivas cargas a montante e jusante no rio das Velhas (d, e). As barras empilhadas representam a contribuição de cada afluente na carga medida em RV-1 e RV-2, respectivamente.

5.4.2.4 Monitoramento de águas superficiais de Belo Horizonte como ferramenta epidemiológica para populações desprovidas de coleta e tratamento de esgoto

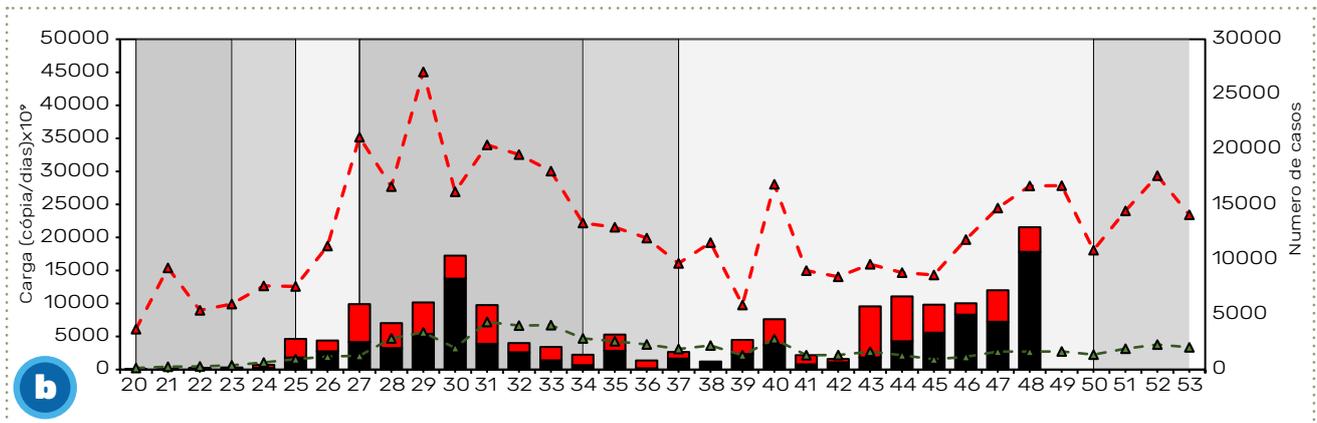
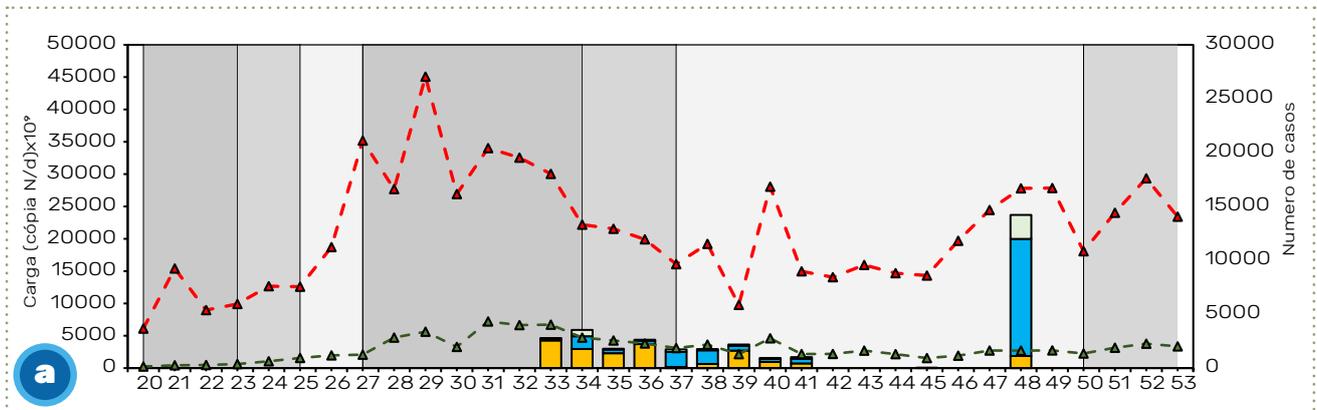
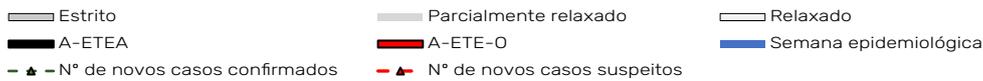
Em 2020, a pandemia COVID-19 em Belo Horizonte foi marcada por três períodos distintos: i) uma primeira onda, período entre o início de junho/20 ao final de julho/20, caracterizado pelo aumento acentuado no número de casos suspeitos e colapso do sistema

de saúde local em junho/20; ii) um período de atenuação, entre agosto/20 ao final de outubro/20, com forte declínio no número de casos suspeitos e recuperação da capacidade de atendimento aos infectados (leitos de hospitais voltaram a ficar disponíveis); e iii) um período de recrudescimento, a partir do início de novembro/20, caracterizado por novo aumento acentuado no número de casos suspeitos e nova pressão por leitos no sistema de saúde local. O mo-

onitoramento dos esgotos afluentes às duas grandes ETEs e das águas superficiais urbanas de Belo Horizonte mostrou forte relação com os dados epidemiológicos, principalmente com relação às tendências de atenuação e agravamento da pandemia. Tanto o esgoto afluente às ETEs quanto as águas superficiais mostraram cargas reduzidas de SARS-CoV-2 no período de atenuação e elevadas no período de recrudescimento, a partir do início de novembro/2020 (Figura 5.20). A população desprovida de coleta e tratamento de esgoto na sub-bacia do Arrudas (monitorada com base no ponto RA-M-ETE, montante ETE Arrudas) aportou elevadas cargas de SARS-CoV-2 no início do período de atenuação (semanas epidemiológicas 33 e 34). Isto sugere que a população desprovida de coleta e tratamento de esgoto na sub-bacia do Arrudas demorou mais tempo para sair da primeira onda da pandemia. Por outro lado, no início do período de recrudescimento (semanas 43 e 45), as populações desprovidas de coleta e tratamento tanto do Arrudas quanto do Onça apresentaram cargas muito baixas. Isto sugere que o aumento da circulação do SARS-CoV-2 nas semanas 43 e 45 ocorreu primeiramente na população servida por coleta e tratamento

de esgotos em ambas as sub-bacias. Na semana 48, em pleno período de recrudescimento, as populações com e sem coleta e tratamento na sub-bacia do Arrudas apresentaram cargas de SARS-CoV-2 muito mais elevadas que as mesmas categorias de população na sub-bacia do Onça. Esses resultados indicam que as populações monitoradas via diferentes matrizes (esgoto nas ETEs e águas superficiais) e nas diferentes sub-bacias apresentaram dinâmicas epidêmicas distintas umas das outras.

As duas grandes ETEs (Arrudas e Onça) de Belo Horizonte recebem esgoto de aproximadamente 85% da população residente nas sub-bacias do Arrudas e do Onça, enquanto o esgoto de aproximadamente 12% da população de Belo Horizonte chega às águas superficiais urbanas de Belo Horizonte sem nenhum tratamento (PMS-BH 2020-2023). Dentre as populações desprovidas de coleta e tratamento de esgoto, a população que contribui com esgotos para o Ribeirão do Onça (a montante da confluência com o córrego do Isidoro) aportou a maior carga de SARS-CoV-2 às águas superficiais urbanas de Belo Horizonte durante o período de monitoramento.



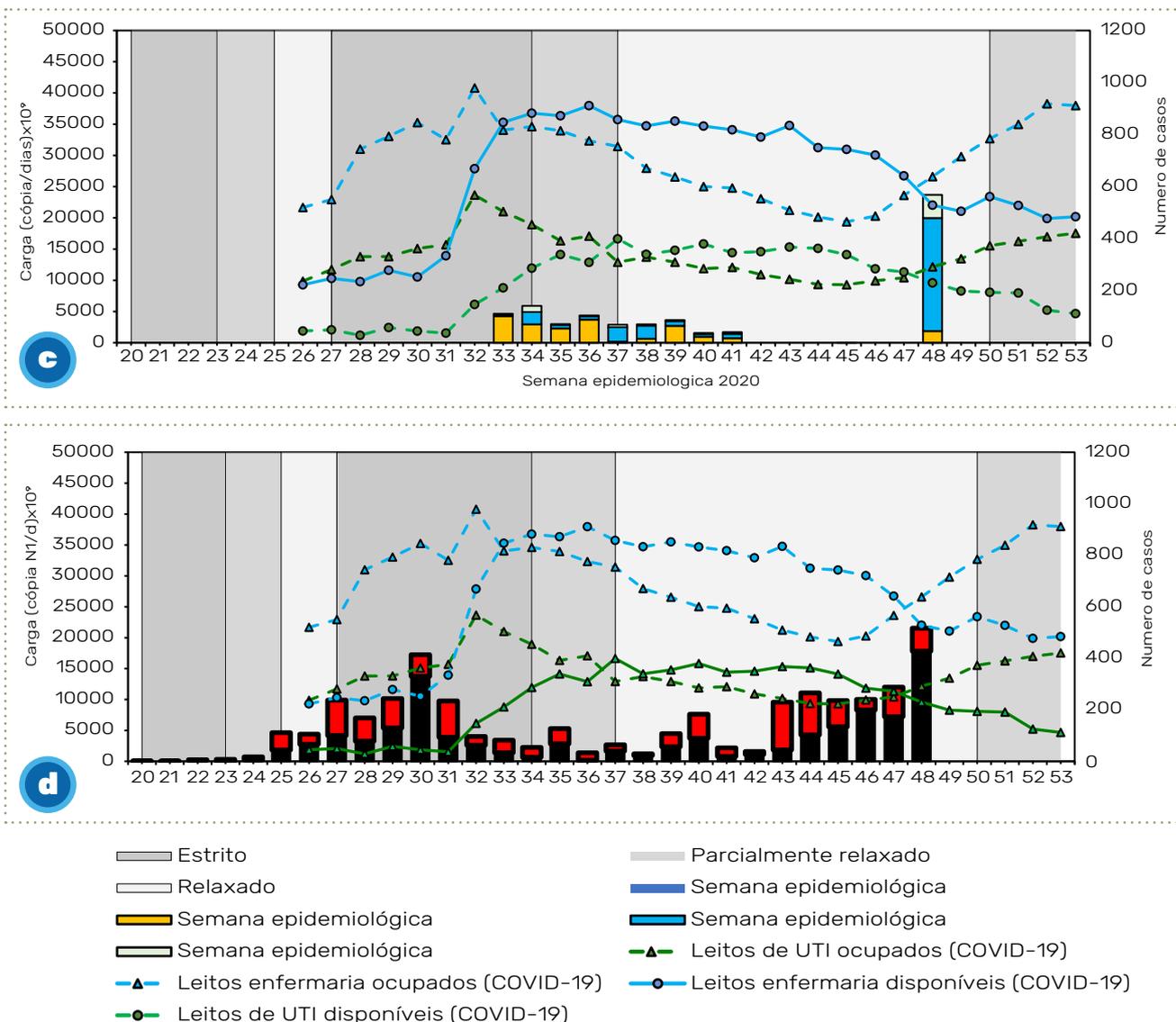


Figura 5.20 – Cargas de SARS-CoV-2 e novos casos confirmados e suspeitos por semana epidemiológica (a) nas águas superficiais urbanas de Belo Horizonte e; (b) nos afluentes das ETES, monitorados pelo Projeto Piloto COVID-Esgotos. Cargas de SARS-CoV-2 e leitos de UTI e enfermaria disponíveis e ocupados (c) nas águas superficiais urbanas de Belo Horizonte e; (d) nos afluentes das ETES, monitorados pelo Projeto Piloto Covid-Esgotos. As semanas marcadas em vermelho correspondem às semanas nas quais houve coleta de águas superficiais de Belo Horizonte.

5.4.3 Conclusões

- 1) Concentrações de SARS-CoV-2 entre 0 e 51 cópias genômicas/mL foram medidas nas amostras de águas superficiais das sub-bacias do Arrudas, do Onça e do Rio das Velhas durante o período de monitoramento.
- 2) Mesmo sem contar com unidades específicas para remoção de organismos patogênicos, as estações de tratamento de esgoto (ETE) Onça e Arrudas reduziram consideravelmente as concentrações de SARS-CoV-2 no efluente lançado nos ribeirões.
- 3) O monitoramento do SARS-CoV-2 nas águas superficiais urbanas de Belo Horizonte indicou que

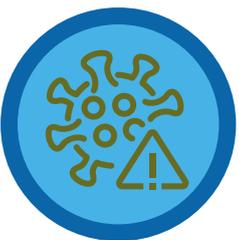
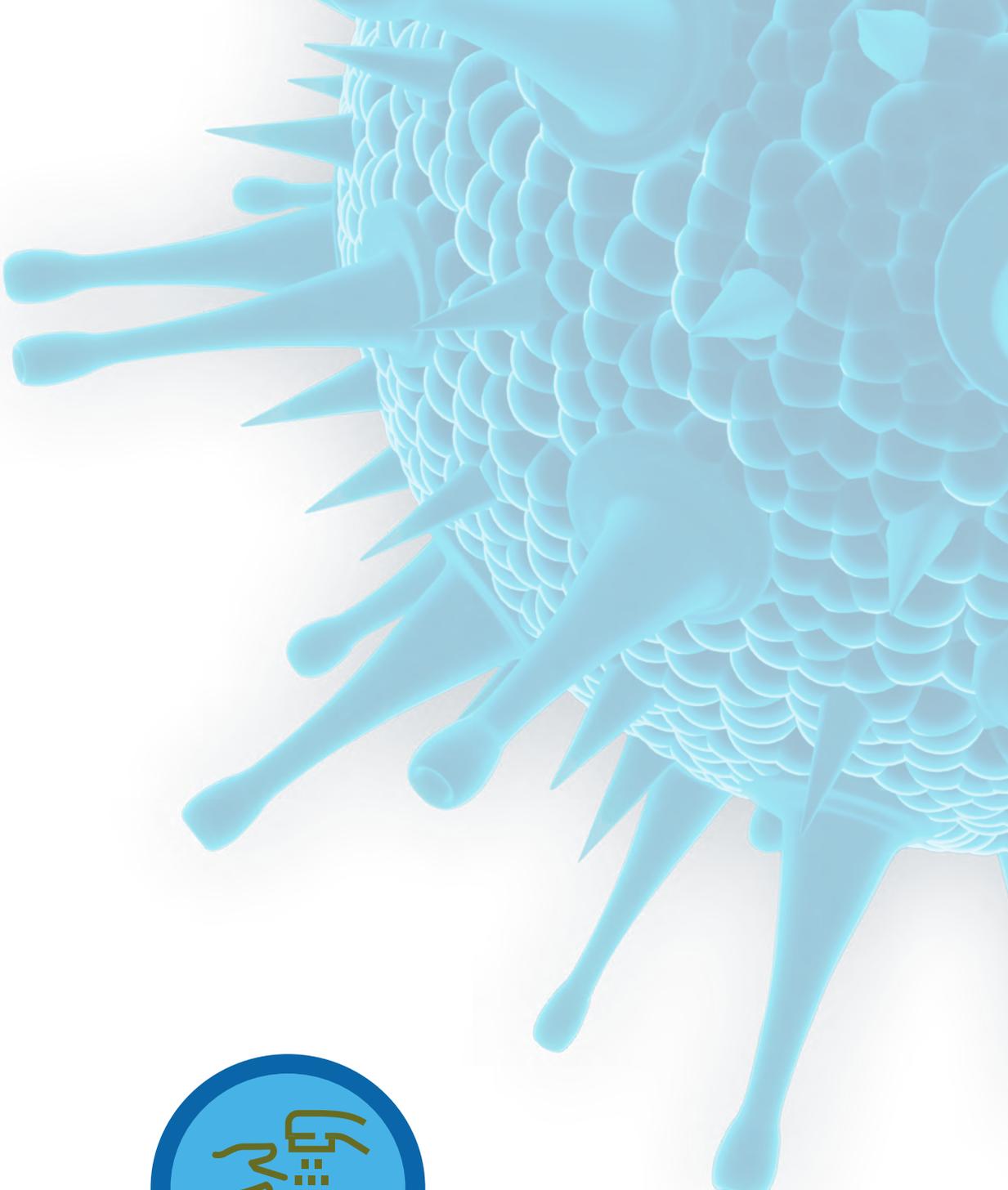
as populações desprovidas de coleta e tratamento de esgoto em Belo Horizonte aportaram elevadas cargas de SARS-CoV no período monitorado, mesmo correspondendo a uma parcela relativamente pequena (12%) da população total.

- 4) Não houve diferenças significativas entre as concentrações de SARS-CoV-2 no Rio das Velhas a montante e a jusante das confluências com os ribeirões Arrudas e Onça. Isto indica que o rio das Velhas apresenta forte capacidade de diluição das cargas virais que nele são aportadas.
- 5) Em cidades com deficiências na coleta e tratamento de esgotos, como a maioria das cidades em países em desenvolvimento, incluindo Belo Horizonte, o monitoramento do SARS-CoV-2 em

águas superficiais urbanas pode ser fundamental como ferramenta epidemiológica para populações vulneráveis, desprovida de coleta e tratamento de esgotos.

5.4.4 Referências

- BELO HORIZONTE (PMS-BH). Plano Municipal de Saneamento de Belo Horizonte: 2020-2023.
- FONGARO, G. et al. SARS-CoV-2 in Human Sewage and River Water from a Remote and Vulnerable Area as a Surveillance Tool in Brazil. **Food and Environmental Virology**, p. 4, 8 jul. 2021.
- GUERRERO-LATORRE, L. et al. SARS-CoV-2 in river water: Implications in low sanitation countries. **Science of the Total Environment**, v. 743, n. February, p. 0-4, 2020.
- HAAS, C. N. et al. Discussion on “Potential discharge, attenuation and exposure risk of SARS-CoV-2 in natural water bodies receiving treated wastewater”. **npj Clean Water**, v. 4, n. 1, p. 32, 15 dez. 2021.
- HARAMOTO, E. et al. First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. **Science of the Total Environment**, v. 737, p. 140405, 2020.
- HELLER, L.; MOTA, C. R.; GRECO, D. B. COVID-19 faecal-oral transmission: Are we asking the right questions? **Science of The Total Environment**, v. 729, p. 138919, ago. 2020.
- HILL, K. et al. SARS-CoV-2 known and unknowns, implications for the water sector and wastewater-based epidemiology to support national responses worldwide: early review of global experiences with the COVID-19 pandemic. **Water Quality Research Journal**, v. 56, n. 2, p. 57-67, 1 maio 2021.
- OMS. Status of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-sci-brief-environmentalSampling-2020-1>>.
- RAZZOLINI, M. T. P. et al. SARS-CoV-2 in a stream running through an underprivileged, underserved, urban settlement in São Paulo, Brazil: A 7-month follow-up. **Environmental Pollution**, v. 290, p. 118003, ago. 2021.
- RIMOLDI, S. G., STEFANI, F., GIGANTIELLO, A., POLESSELLO, S., COMANDATORE, F., MILETO, D., ... & SALERNO, F. Presence and infectivity of SARS-CoV-2 virus in wastewaters and rivers. **Science of the Total Environment**, 744, 140911, 2020.
- ROSILES-GONZÁLEZ, G. et al. Environmental Surveillance of SARS-CoV-2 RNA in Wastewater and Groundwater in Quintana Roo, Mexico. **Food and Environmental Virology**, n. 0123456789, 20 ago. 2021.
- SNIS. Do SNIS ao SINISA. Informações para planejar o Esgotamento Sanitário. Diagnóstico SNIS-AE 2019. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/downloads/cadernos/2019/DO_SNIS_AO_SINISA_ESGOTO_SNIS_2019.pdf>.
- SUN, J. et al. Isolation of infectious SARS-CoV-2 from urine of a COVID-19 patient. **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n. 1, p. 991-993, 1 jan. 2020.
- XIAO, F. et al. Infectious SARS-CoV-2 in Feces of Patient with Severe COVID-19. **Emerging Infectious Diseases**, v. 26, n. 8, p. 1920-1922, ago. 2020.





CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde o início da pandemia, várias iniciativas ao redor do mundo estabeleceram o monitoramento dos esgotos para identificação do agente infeccioso, com o objetivo de mapear a ocorrência e a disseminação do novo coronavírus, e então estabelecer estratégias de prevenção e controle da sua circulação nas comunidades. Nesse contexto, foi concebido o **Projeto Piloto Monitoramento COVID Esgotos: Detecção e Quantificação do Novo Coronavírus em Amostras de Esgoto nas Cidades de Belo Horizonte e Contagem**. Uma iniciativa conjunta da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgotos (INCT ETEs Sustentáveis, a partir de seu núcleo na UFMG), em parceria com a Companhia de Saneamento de Minas Gerais (Copasa), o Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) e a Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES).

Em abril de 2020, foi iniciada a detecção e quantificação do novo coronavírus em amostras de esgoto coletadas em pontos estratégicos dos sistemas de esgotamento sanitário das sub-bacias dos ribeirões Arrudas e Onça, afluentes do rio das Velhas. A abrangência do monitoramento foi modificada ao longo do projeto e incluiu o esgoto gerado em locais com grande circulação de pessoas (rodoviária, aeroporto, shopping centers e universidade) e os ribeirões Arrudas e Onça. A opção por um monitoramento descentralizado, além das grandes estações de tratamento de esgotos, trouxe informações importantes sobre a distribuição espacial e prevalência regional e local do vírus. O apoio dos parceiros na realização das coletas de

campo foi imprescindível, bem como o treinamento das equipes para o manuseio das amostras e dos equipamentos com segurança. O protocolo utilizado como referência para as análises laboratoriais, desenvolvido pela UFMG, se mostrou exitoso e tem sido utilizado como referência em outras regiões do país.

De forma geral, os meses de julho e dezembro de 2020, além do período final de monitoramento (março/2021), foram caracterizados como os piores momentos da pandemia em Belo Horizonte e Contagem. Os picos nas cargas virais da população (medidas no esgoto) coincidiram com a pressão sobre as redes de saúde privada e pública, evidenciada por elevados índices de ocupação de leitos dedicados ao tratamento de pacientes com COVID-19. Em relação aos casos confirmados, verificou-se que os picos nas cargas virais foram antecedentes, evidenciando o monitoramento do esgoto como importante ferramenta de vigilância epidemiológica. Foi, portanto, uma oportunidade de grande integração com as autoridades de saúde, a fim de que as informações geradas a partir dos esgotos fossem utilizadas para auxiliar no estabelecimento de diretrizes para o enfrentamento da pandemia. Nesse contexto, os boletins semanais e o painel dinâmico se mostraram formas de comunicação ágeis, mas que podem ser aprimoradas para fins de alerta precoce.

Como fruto da experiência bem-sucedida do Projeto Piloto, em articulação com o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), foi criada uma rede de pesquisa entre as Universidades Federais de Minas Gerais,

do Ceará, de Pernambuco, do Rio de Janeiro, do Paraná e a Universidade de Brasília. A **Rede Monitoramento COVID Esgotos** expande o monitoramento do vírus SARS-CoV-2 nos esgotos de Belo Horizonte para as cidades de Fortaleza, Recife, Rio de Janeiro, Curitiba e Brasília, contemplando diferentes realidades regionais. O projeto da rede foi iniciado em dezembro de 2020.

Essa ampliação, aliada a outras experiências em andamento no País, tem como um dos objetivos o estabelecimento das bases para um **Programa Nacional de Vigilância Epidemiológica a partir do Monitoramento dos Esgotos**, conforme entendimento que tem sido mantido com equipe do Ministério da Saúde. A viabilidade de um programa dessa natureza enfrenta desafios, como a heterogênea cobertura de serviços de esgotamento sanitário do país e a necessidade de aprimoramento das estruturas de governança vinculadas às políticas de saneamento, de recursos hídricos e de vigilância em saúde. Nesse contexto, a nova atribuição dada à ANA, por meio da Lei no 14.026 de

15 de julho de 2020, de estabelecer as normas de referência para a regulação dos serviços públicos de saneamento no Brasil, pode representar um elemento-chave de integração.

A criação de um Programa Nacional de Vigilância Epidemiológica a partir do Monitoramento dos Esgotos deve integrar a estrutura governamental do País, servindo tanto para monitorar as tendências de circulação do novo coronavírus e fornecer alertas precoce, como para a investigação das variantes do SARS-CoV-2. Ademais, cabe ressaltar as potencialidades da epidemiologia baseada no esgoto para a obtenção de informações sobre a circulação de outros micro-organismos infecciosos, bem como de substâncias de interesse para a saúde pública que são excretadas nas fezes e na urina, e que podem ser rastreadas nos esgotos, a exemplo de resíduos farmacêuticos e drogas. Por fim, destaca-se que a iniciativa também resgata a relação água, saneamento e saúde, servindo para o fortalecimento da integração de ações entre essas políticas.

