

MONITORAMENTO AMBIENTAL DO SARS-CoV-2 EM EFLUENTES NO RIO GRANDE DO SUL

JENIFER SEVERO BERETTA¹; BRUNO ASCHIDAMINI PRANDI²; PAULO MICHEL ROEHE²; FABRÍCIO SOUZA CAMPOS²; NICÓLE VERARDO DE MATTOS²; ANA CLÁUDIA FRANCO³

¹*Centro Universitário Ritter dos Reis – jeniferberettas@gmail.com*

²*Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – aschidamini.b@gmail.com, proehe@gmail.com, camposvet@gmail.com, nicolev.ufrgs@gmail.com*

³*Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – anafranco.ufrgs@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Desde a descoberta do coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2), que causou o surto inicial em Wuhan em dezembro de 2019, o novo vírus causou turbulência nos sistemas de saúde ao redor do mundo. No Rio Grande do Sul ao longo do mês de junho de 2023 foram confirmados 238 casos de covid-19 (SES-RS, 2 de julho de 2023) e no último período de 28 dias (31 de julho a 27 de agosto de 2023), mais de 1,4 milhão de novos casos de COVID-19 e mais de 1.800 mortes foram relatadas no globo (WHO, 1 setembro 2023).

A partir do conhecimento prévio sobre a excreção de outros coronavírus como MERS-CoV e SARS-CoV (CERRADA-ROMERO et al., 2022) pelas fezes, foi observado que o RNA de SARS-CoV-2 pode ser detectado nas fezes de indivíduos infectados (com ou sem sintomas) (WU et al., 2020; XU et al., 2020) e, conseqüentemente, em efluentes urbanos ou esgotos sanitários (WURTZER et al., 2020; MEDEMA, 2020; FERREIRA, 2020).

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo evidenciar a detecção de SARS-CoV-2 em amostras de efluentes urbanos no Rio Grande do Sul para confirmar a presença ou a ausência do material genético viral em águas efluentes.

2. METODOLOGIA

O Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Básicas de Saúde (ICBS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) realizou a coleta de amostras de Estações de Tratamento de Esgotos (ETE). As coletas foram realizadas na ETE Guarani (Capão da Canoa), ETE Santa Rosa, ETE Tega Samae (Caxias do Sul) e ETE Araucária (Passo Fundo).

As amostras foram previamente concentradas por ultracentrifugação através do protocolo de concentração viral por ultracentrifugação descrito em PINA et al. (1998) com adaptações (GIRARDI et al., 2017). Resumidamente, as amostras de águas residuais (36 ml) foram ultracentrifugadas a 110.000 x g a 4 °C por 1 hora. Em seguida, o pellet foi ressuspenso em 4 mL de tampão Glicina 0,25 N pH 9,5, transferido para um tubo falcon de 15 ml e incubado por 30 minutos no gelo com agitação por vórtex a cada 5 minutos. Foram adicionados 4 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS 2X, pH 7,4), em seguida as amostras foram clarificadas a 3.000 x g por 20 minutos para remoção de partículas em suspensão. Os sobrenadantes foram coletados e ultracentrifugados a 110.000 x g a 4 °C por 1 hora.

Os sobrenadantes foram descartados e o pellet foi ressuspendido em 500 µL de tampão PBS 1X, e as amostras foram armazenadas em ultrafreezer -80 °C até a extração de RNA.

Foi realizada a extração de RNA através do Kit de Purificação de Ácido Nucleico Total Viral Maxwell e testes de RT-qPCR utilizando primers e sondas desenhadas para o gene N. Resumidamente, a reação de RT-qPCR foi realizada com o kit AgPath One-Step RT-qPCR (ThermoFisher), e as condições de termociclagem utilizadas foram: 15 minutos a 50 °C para a reação de transcrição reversa, pré-aquecimento a 95 °C por 10 minutos, seguido por 45 ciclos de amplificação de 15 segundos a 95 °C e 30 segundos a 55 °C. As cargas virais de RNA foram determinadas a partir de uma curva padrão de controle positivo de SARS-CoV-2 com diluições seriadas (cinco pontos de fator de diluição 1:10), previamente quantificada por PCR de gotículas digitais (ddPCR) (MONTEIRO E SANTOS, 2017). As amostras foram consideradas positivas se o ciclo de quantificação (CQ) fosse inferior a 40 ciclos, caso contrário, negativas (ou seja, sem detecção do RNA do SARS-CoV-2 na amostra).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tendo em vista que as pessoas excretam o SARS-CoV-2 em suas fezes e que este pode ser encontrado em efluente não tratado, os resultados encontrados foram 32 amostras processadas sendo que 23 apresentaram-se positivas e 9 negativas para o SARS-CoV-2. As cargas virais nas amostras positivas variaram entre 51.129 e 605.544 cópias genômicas por litro.

No total foram processadas oito amostras de cada estação de tratamento de águas residuais. Na ETE Araucária foram 6 amostras positivas e 2 negativas. Na ETE Guarani, 7 amostras positivas e 1 negativa. Na ETE Tega-Samae, 6 amostras positivas e 2 negativas. Na ETE Santa Rosa, 4 amostras positivas e 4 negativas.

Informações a respeito da circulação viral de SARS-CoV-2 no esgoto são de grande importância, mesmo após os períodos de maior disseminação viral da pandemia, pois nos fornecem dados a respeito da situação de circulação viral atual e podem servir como parâmetro para avaliar surtos e re-emergências em cenários de testagem populacional reduzida (WURTZER et al., 2020)

4. CONCLUSÕES

Os resultados aqui encontrados permitem concluir que foi possível detectar de forma quantitativa a presença de RNA do SARS-CoV-2 na maioria das amostras de efluentes coletadas ao longo do período de monitoramento, o que permite a avaliação do nível de circulação do vírus nas comunidades atendidas pelas diferentes ETEs.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CERRADA-ROMERO, C.; BERASTEGUI-CABRERA, J.; CAMACHO-MARTÍNEZ, P.; GOIKOETXEA-AGUIRRE, J.; PÉREZ-PALACIOS, P.; SANTIBÁÑEZ, S.; BLANCO-

VIDAL, M.J.; VALIENTE, A.; ALBA, J.; RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ, R.; PASCUAL, Á.; OTEO, J.A.; CISNEROS, J.M.; PACHÓN J.; CASAS-FLECHA, I.; CORDERO, E.; POZO, F.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J. Excretion and viability of SARS-CoV-2 in feces and its association with the clinical outcome of COVID-19. *Sci Rep* **12**, 7397. 2022.

FERREIRA, V. Fiocruz divulga estudo sobre a presença do novo coronavírus em esgotos sanitários. **Fiocruz Notícias**. 28 abril 2020 [acesso 07 setembro 2023].

GIRARDI, V.; DEMOLINER, M.; RIGOTTO, C.; SCHNEIDER, V.E.; PAESI, S.; SPILKI, F.R. Assessment of diversity of adenovirus DNA polymerase gene in recreational waters facilitated by ultracentrifugal concentration. **Journal of Water and Health** **16(1)**, 102-111. 2017.

MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R. Presence of SARS-coronavirus-2 in sewage. **medRxiv**. 2020:1-9.

MONTEIRO, S.; SANTOS, R. Nanofluidic digital PCR for the quantification of Norovirus for water quality assessment. **PLOS ONE** **12(7)**, e0179985. 2017.

PINA, S.; PUIG, M.; LUCENA, F.; JOFRE, J.; GIRONES, R. Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. **Appl Environ Microbiol** **64(9)**, 3376-3382. 1998.

PRANDI, B.A.; MANGINI, A.T.; NETO, W.S.; JARENKOW, A.; LOZANO, L.V.; CAMPOS, A.A.S.; COLARES, E.R.C.; BUZZETTO, P.R.O.; AZAMBUJA, C.B.; TROMBIN, L.C.B.; RAUGUST, M.S.; LORENZINI, R.; LARRE, A.S.; RIGOTTO, C.; CAMPOS, F.S.; FRANCO, A.C. Wastewater-based epidemiological investigation of SARS-CoV-2 in Porto Alegre, Southern Brazil. **Science in One Health Volume 1** 100008. 2022.

SECRETARIA ESTADUAL DA SAUDE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, Boletim do Sistema 3AS de Monitoramento. Disponível em: <https://ti.saude.rs.gov.br/covid19/>, Acessado em 10 de Setembro de 2023

XU, Y.; LI, X.; ZHU, B.; LIANG, H.; FANG, C.; GONG, Y.; et al. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. **Nat Med**. 2020;26(4):502-5.

World Health Organization. **Weekly epidemiological update on COVID-19 - 1 September 2023**. Acessado em 14 de setembro 2023. Online. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19--1-september-2023>

WU, Y.; GUO, C.; TANG, L.; HONG, Z.; ZHOU, J.; DONG, X.; et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in fecal samples. **Lancet Gastroenterol Hepatol**. 2020;5(5):434-5.