

Artículo de investigación

## Vigilancia ambiental de SARS-CoV-2 en Caracas mediante epidemiología de aguas residuales

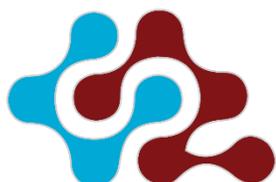
Bastardo Marjorie<sup>1</sup> , Rangel R. Héctor<sup>3</sup> , Malaver Nora<sup>1</sup> , Farías Alba<sup>1</sup> , Moncada Nelson<sup>2</sup> , Rodríguez María<sup>1</sup> , Zamora-Figueroa Alejandra<sup>1\*</sup> .

**1** Laboratorio de Ecología de Microorganismos, Centro de Ecología Aplicada. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. **2** Laboratorio de Biología de Vectores y Parásitos. Centro de Ecología y Evolución. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. **3** Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Microbiología y Biología Celular. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Altos de Pipe, Miranda, Venezuela.

### Resumen

En marzo del 2020 la OMS declaró la pandemia por COVID-19, enfermedad causada por el coronavirus SARS-CoV-2. En diversos países se ha implementado la epidemiología de aguas residuales para la vigilancia ambiental del virus en las comunidades. El ARN del SARS-CoV-2 se excreta a través de las heces, saliva y el esputo, fluidos que son eliminados a través de sistemas de aguas residuales, y su detección y cuantificación se relaciona con los casos activos de la COVID-19. En tal sentido, el objetivo fue detectar la presencia de este virus en aguas residuales en diferentes parroquias de Caracas y determinar patrones de prevalencia. Se realizó la concentración del ARN viral, extracción y posterior RT-qPCR dirigida a los genes N1 y ORF1ab. Del total de muestras recolectadas, el 88,5 % fueron positivas. Aquellas parroquias con mayor densidad poblacional también mostraron mayores concentraciones de SARS-CoV-2 en aguas residuales. Asimismo, se encontró correlación entre los casos de COVID-19 reportados con la concentración viral en el agua. La aplicación de la epidemiología de aguas residuales, como una herramienta nueva en Venezuela aplicada a la vigilancia de SARS-CoV-2 en la Región Capital mostró ser de mucha utilidad como complemento de la vigilancia epidemiológica del virus.

**Palabras clave:** Epidemiología de aguas residuales; SARS-CoV-2; COVID-19; aguas residuales; vigilancia ambiental.



CIENCIA EN REVOLUCIÓN

**Recibido:** 15 de mayo del 2023

**Aceptado:** 29 de mayo del 2023

**Publicado:** 12 de septiembre del 2023

**Conflicto de intereses:** los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

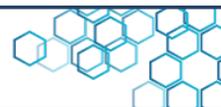
**DOI:** <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.8335589>

**\*Autor para**

**correspondencia:** Zamora-Figueroa Alejandra

**e-mail:**

[alejandra.zamora@gmail.com](mailto:alejandra.zamora@gmail.com)



Research article

## Environmental surveillance of SARS-CoV-2 in Caracas through wastewater epidemiology

Bastardo Marjorie<sup>1</sup> , Rangel R. Héctor<sup>3</sup> , Malaver Nora<sup>1</sup> , Farías Alba<sup>1</sup> , Moncada Nelson<sup>2</sup> , Rodríguez María<sup>1</sup> , Zamora-Figueroa Alejandra<sup>1\*</sup> .

1 Laboratorio de Ecología de Microorganismos, Centro de Ecología Aplicada. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 2 Laboratorio de Biología de Vectores y Parásitos. Centro de Ecología y Evolución. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 3 Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Microbiología y Biología Celular. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Altos de Pipe, Miranda, Venezuela.



Received: May 15, 2022

Accepted: May 29, 2023

Published: September 12, 2023

**Conflict of interest:** the authors declare that there are no conflicts of interest.

**DOI:** <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.8335589>

**\*Corresponding author:**

Zamora-Figueroa Alejandra

**e-mail:**

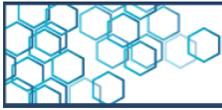
[alejandra.zamora@gmail.com](mailto:alejandra.zamora@gmail.com)

[m](https://orcid.org/0009-0001-8000-0000)

### Abstract

On March 2020, WHO declared the COVID-19 pandemic, a disease caused by the SARS-CoV-2 coronavirus. In various countries, wastewater epidemiology has been implemented for environmental surveillance of the virus in communities. SARS-CoV-2 RNA is excreted through feces, saliva and sputum, fluids that are eliminated through wastewater systems, and its detection and quantification relate to active cases of COVID-19. In this sense, the objective was to detect the presence of this virus in wastewater in different parishes of Caracas and determine prevalence patterns. Viral RNA concentration, extraction and subsequent RT-qPCR targeting the N1 and ORF1ab genes were performed. Of the total samples collected, 88,5 % were positive. Those parishes with higher population density also showed higher concentrations of SARS-CoV-2 in wastewater. Likewise, a correlation was found between the cases of COVID-19 reported with the viral concentration in the water. The application of wastewater epidemiology, as a new tool in Venezuela applied to the surveillance of SARS-CoV-2 in the Capital Region, proved to be very useful as a complement to the epidemiological surveillance of the virus.

**Keywords:** wastewater-based epidemiology; SARS-CoV-2; COVID-19; wastewater; environmental surveillance.

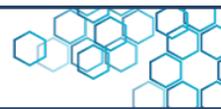


## 1. Introducción

En diciembre de 2019, la Organización Mundial de la Salud (OMS) fue informada sobre un brote de neumonía en Wuhan, provincia de Hubei, China, para ese momento la etiología no fue identificada. El 30 de enero de 2020, la OMS declaró la epidemia de coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) como una emergencia de salud pública de importancia internacional (ESPII). El 11 de febrero de 2020, la OMS nombró oficialmente el brote actual de enfermedad por coronavirus como Enfermedad por coronavirus-2019 (COVID-19) [1] y el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) nombró al virus como SARSCoV-2 [2]. La diseminación viral a través de países asiáticos y europeos llevó a la OMS a declarar la pandemia del COVID-19 en marzo de 2020 [3].

El SARS-CoV-2 es un virus RNA de la familia Coronaviridae, la cual también incluye al virus SARS-CoV-1 causante del brote de SARS en 2003 [4] y el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oeste (MERS-CoV, por sus siglas en inglés) que causó el brote de MERS en 2012 [5].

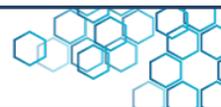
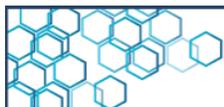
El receptor celular del SARS-CoV-2, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA-2) se expresa abundantemente en el intestino delgado [6] por lo que el tracto gastrointestinal es permisivo para la replicación viral. De hecho, el virus se ha detectado en epitelios gástricos, esofágicos, duodenales, rectales e intestinales [7, 8, 9]. Cualquier virus excretado fecalmente alcanzará las aguas residuales [10]. La detección del ARN del SARS-CoV-2 que se excreta a través de las heces, saliva y el esputo, fluidos que son eliminados a través de



sistemas de aguas residuales [11, 12], constituye una prueba de la circulación de dicho virus en la población. Además, el ARN del SARS-CoV-2 podría detectarse incluso si hubiese un subregistro del número de casos confirmados [13] pues, en ocasiones las personas infectadas no presentan síntomas.

Este hecho constituye el fundamento de la epidemiología basada en aguas residuales (WBE, Wastewater-Based Epidemiology, por sus siglas en inglés), la cual es una herramienta importante para detectar agentes patógenos y puede servir como sistema de alerta temprana para los brotes de enfermedades [14]. El enfoque se basa en la suposición de que cualquier sustancia que sea excretada por los seres humanos y sea estable en las aguas residuales puede utilizarse para calcular la concentración original excretada por la población atendida. Este mismo concepto se puede traducir a la vigilancia del virus [15]. Un ejemplo de ello ha sido la caracterización molecular de rotavirus detectados en aguas residuales, lo cual permitió obtener una panorámica de la epidemiología de dichos agentes de gastroenteritis infantil en distintas áreas geográficas, con el fin de predecir la eficiencia de una futura vacunación para rotavirus [16].

Esta metodología se planteó por primera vez como una herramienta potencial para evaluar el uso de drogas ilícitas y fármacos terapéuticos mal utilizados dentro de una comunidad en el año 2001 [17]. También se ha aplicado en el pasado para virus no envueltos con un enfoque particular en los poliovirus, sobre todo en países como Egipto e Israel [18, 19] y desde entonces, la vigilancia ambiental sistemática se utiliza como complemento de la vigilancia de poliomeilitis, y en menor medida enterovirus [20], echovirus [21], adenovirus [22], poliovirus [23], y Hepatitis E [24].



La detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales permite implementar un sistema de alerta temprana y de vigilancia para detectar cambios en la circulación del virus en la población, pues, la concentración viral en las aguas residuales de un área determinada es un indicador de la prevalencia de la infección en la población [25, 26].

Por otro lado, la epidemiología basada en aguas residuales no solo tiene el potencial de detectar virus en aguas residuales, sino que también es capaz de rastrear la diversidad y la propagación de variantes virales en lugares urbanos y suburbanos, lo que puede ayudar a los esfuerzos de salud pública para controlar los brotes de la enfermedad [14] y además tiene la ventaja de que no depende de los recursos sanitarios y clínicos [27].

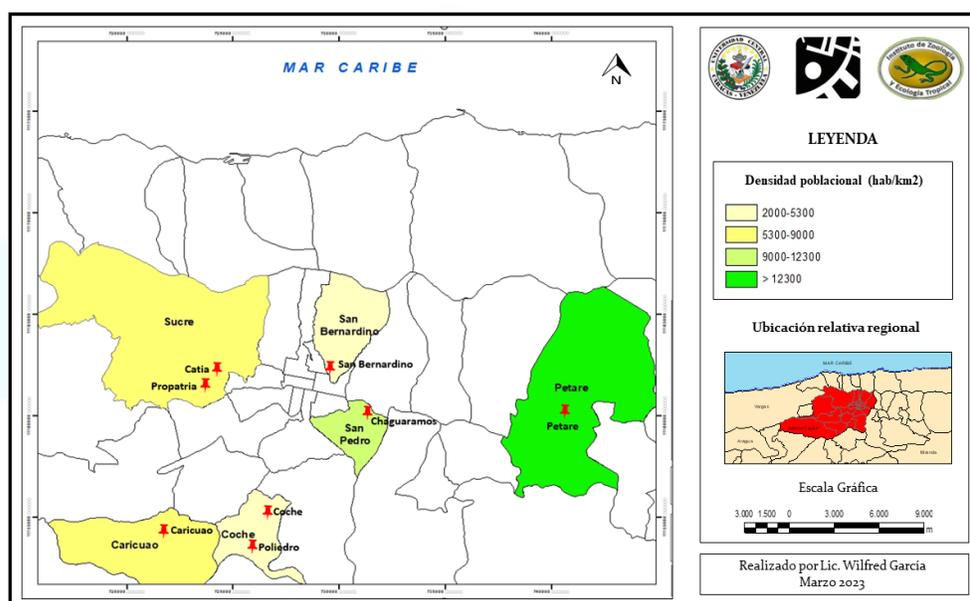
Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue detectar la presencia del virus SARS-CoV-2 en aguas servidas de la ciudad de Caracas para de esta forma establecer un patrón espacio-temporal de zonas con mayor y menor prevalencia del virus.

## 2. Metodología

### 2.1 Recolección de las muestras

Se colectaron muestras simples de aguas residuales directamente del sistema de alcantarillado de la Ciudad de Caracas. Se escogieron ocho (8) sectores como se muestra en la Figura 1: San Bernardino, Caricuao, Catia, Propatria, Poliedro, Coche, Los Chaguaramos y Petare, que pertenece al Estado Miranda y es una parroquia con alta densidad

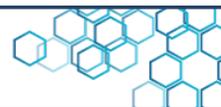
poblacional. Las muestras se captaron con una frecuencia semanal, en el período comprendido desde el 6 de septiembre hasta el 29 de noviembre del 2021, en envases de vidrio estériles, y para su conservación se mantuvieron refrigeradas en cavas durante el traslado al laboratorio. Durante la recolección, se midieron *in situ* parámetros fisicoquímicos pH, conductividad eléctrica (CE) y temperatura usando una sonda multiparamétrica.



**Figura 1.** Mapa de ubicación relativa de los sitios de muestreo en las diferentes parroquias que constituyeron el área de estudio. Fuente: Elaborado por Wilfred García (2023).

## 2.2 Pasteurización

Con el fin de inactivar los patógenos en el agua residual, ésta se pasteurizó colocando las muestras en baño de calentamiento a 60 °C



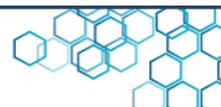
durante 90 minutos [28] y una vez finalizado este paso se guardaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior procesamiento.

### 2.3 Concentración viral

Todas las muestras se concentraron de acuerdo al protocolo descrito por Trujillo et al. [28], procesando submuestras de 40 mL y añadiendo PEG hasta una concentración de 10 % p/v y NaCl 0,4 M para precipitar las partículas virales. Las muestras se incubaron a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  toda la noche y luego se centrifugaron a 12.000 xg durante 120 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Finalizada la centrifugación, la mayor parte del sobrenadante se retiró por decantación, el pellet se resuspendió en el líquido restante y se tomó una alícuota de 1 mL, que se almacenó a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta realizar el procedimiento de extracción.

### 2.4 Extracción de ARN y cuantificación viral

La extracción de ARN viral se realizó usando el kit comercial de IBI Scientific® siguiendo las instrucciones del fabricante. La cuantificación viral se realizó mediante PCR en tiempo real con transcripción inversa (RT-qPCR). La RT-qPCR fue dirigida a las regiones ORF1ab y N1 del ARN viral. Se utilizó el kit diagnóstico de Sansure Biotech [Novel Coronavirus (2019-nCov) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCR-Fluorescence Probing)]. Las muestras se consideraron positivas para valores de Ct (cycle threshold, por sus siglas en inglés) por debajo de 40 [30, 31].

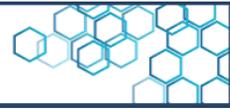
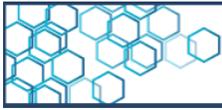


## 2.5 Curva de calibración

Los datos obtenidos con la RT-qPCR fueron convertidos de Ct a copias de genes por reacción (GC) utilizando una curva de calibración para cada gen. Para la realización de la curva se utilizaron tres alícuotas de aproximadamente 40  $\mu\text{L}$  del virus SARS-CoV-2 inactivado y cultivado en laboratorio, se realizaron diluciones seriadas con un factor de 10, desde  $10^{-1}$  a  $10^{-10}$ , estas diluciones se hicieron por triplicado, tomando 10  $\mu\text{L}$  del ARN viral y 90  $\mu\text{L}$  de agua ultrapura. Se procedió a realizar la RT-qPCR, y de acuerdo a los resultados se realizó la curva de Ct vs GC para cada gen. La concentración inicial se determinó de acuerdo a la dilución cuyo Ct era más alto (en este caso,  $10^{-8}$ ), suponiendo que había 10 copias de genes en esta dilución. Para la conversión de Ct a GC se utilizó la ecuación de Flood et al. [32].

## 2.6 Medición de parámetros fisicoquímicos

Los parámetros de temperatura, pH y conductividad se midieron utilizando un equipo multiparámetro, sumergiendo los electrodos correspondientes directamente en las muestras de agua hasta que el valor de la lectura de la pantalla se estabilizara.



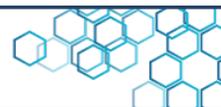
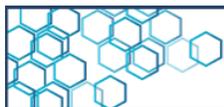
## 2.7 Análisis de datos

Se creó un mapa de calor (heat map) para visualizar la actividad de transmisión en las comunidades en función de la intensidad de la carga viral y los datos correspondientes a cada punto de muestreo. A fin de determinar la correlación entre la carga de SARS-CoV-2 en agua y los casos de COVID-19 reportados se realizaron pruebas de correlación de rango de Spearman. Debido a que el propósito de esta correlación era establecer un patrón temporal, la variabilidad espacial fue obviada realizando un promedio con las 8 muestras captadas en cada semana de muestreo. Se realizó un análisis de componentes principales con el fin de correlacionar las variables fisicoquímicas medidas *in situ* con los valores de concentración viral determinados en cada sitio y fecha de muestreo. Todos los análisis fueron realizados usando el software libre R, versión 4.1.1.

## 3. Resultados

La parroquia con mayor densidad poblacional es Petare, con más de 12.300 habitantes por kilómetro cuadrado ( $\text{hab}/\text{km}^2$ ), seguida de la parroquia San Pedro como indica la Figura 1. Esta información es relevante puesto que desde el punto de vista epidemiológico se puede esperar mayor o menor concentración viral con base al número de contagios de dichas parroquias.

Se analizaron un total de 104 muestras, de las cuales 92 resultaron positivas al menos para uno de los genes analizados, lo que



representa un índice de positividad del 88,5 % como se reporta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Índice de positividad de las muestras residuales por parroquia

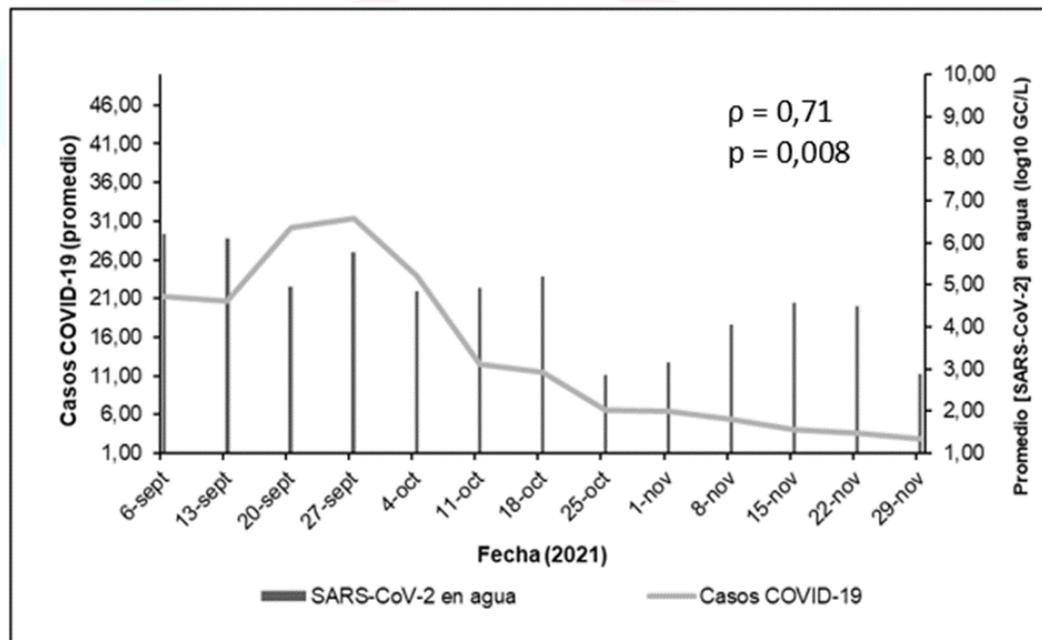
Parroquia	Índice de positividad (%)			Total (por parroquia)
	Septiembre	Octubre	Noviembre	
Caricuao	100	100	100	100
Coche	100	87,5	80	88,5
Petare	75	50	80	69,2
San Bernardino	100	100	100	100
San Pedro	100	75	60	76,9
Sucre	100	87,5	90	92,3
Total (por mes)	96,9	84,4	82,5	-

**Fuente:** Elaboración propia del autor (2022)

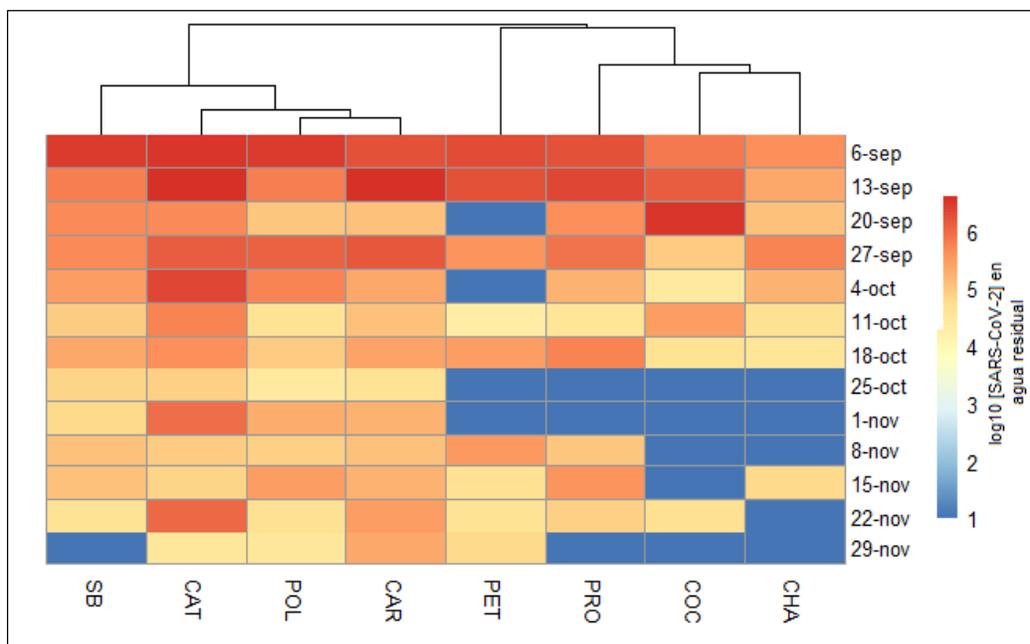
En las parroquias Caricuao y San Bernardino se detectó el SARS-CoV-2 en la totalidad de muestras colectadas. En contraste con esto, las muestras de Petare presentaron el menor índice de positividad (69,2 %), detectándose el virus en el mes de octubre solo en el 50 % de las muestras. En las parroquias Coche y San Pedro el índice de positividad presentó tendencia negativa, mientras que en las muestras colectadas en las parroquias Petare y Sucre se reportó un índice de detección que disminuyó de septiembre a octubre, pero aumentó en el mes de noviembre.

La Figura 2 muestra el patrón temporal del promedio en la concentración de SARS-CoV-2 en aguas residuales y el promedio de casos de COVID-19 reportados en las parroquias pertenecientes al área de estudio. Se determinó una correlación positiva ( $\rho=0,71$ ) y significativa ( $p<0,05$ ) entre los casos de COVID-19 reportados y la concentración viral en aguas residuales.

Los datos indicaron un aumento en el promedio de casos de COVID-19 en el mes de septiembre, disminuyendo hacia finales del mes de noviembre, tendencia que también se observó en algunas parroquias estudiadas.



**Figura 2.** Promedio de casos de COVID-19 y concentración de SARS-CoV-2 en agua residual durante las diferentes fechas de muestreo. Fuente: Elaboración propia del autor (2023).

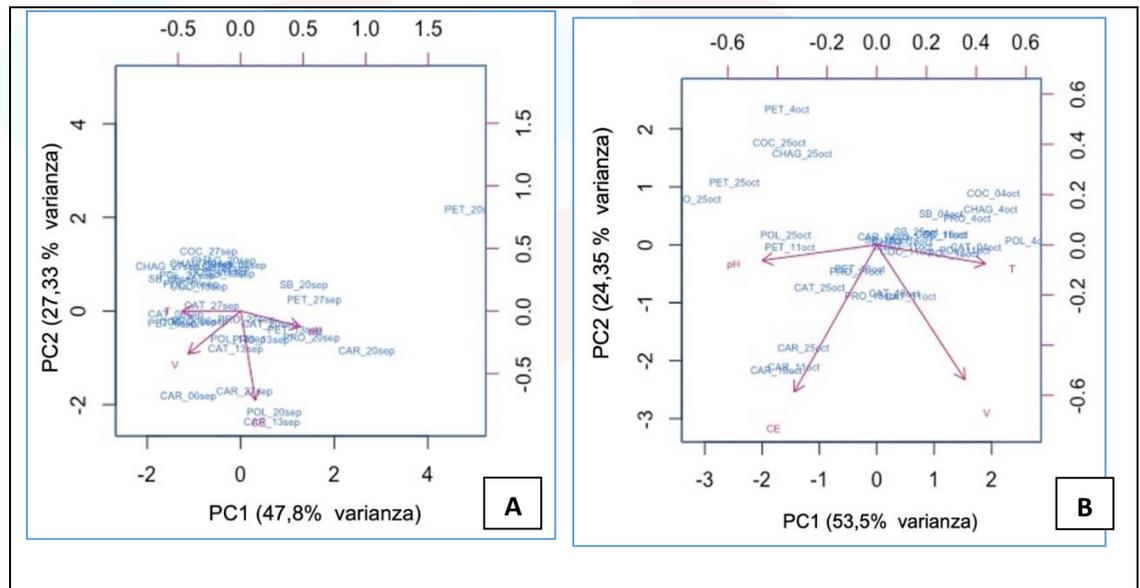


**Figura 3.** Heat map que muestra la concentración de SARS-CoV-2 en agua residual en cada sitio durante el periodo de muestreo. SB= San Bernardino, CAT = Catia, POL = Poliedro, CAR = Caricuao, PET = Petare, PRO = Propatria, COC = Coche, CHA = Chaguaramos. Elaboración propia del autor (2023).

En la Figura 3 (heatmap) se puede observar el patrón espacio-temporal de las concentraciones virales determinadas. Al inicio de los muestreos, la carga viral fue alta en todos los sitios, con una tendencia a disminuir a medida que pasaban las semanas. También, hubo muestreos en los que ninguno de los genes virales fue detectado (color azul en el gráfico). A partir del 20 de septiembre la carga viral disminuyó en la mayoría de los sitios, excepto Coche, donde se reportó un aumento de la misma. Se observó que Catia fue uno de los sitios cuyas muestras presentaron concentración viral de alta a moderada durante todo el período de muestreo, seguido de Caricuao y Poliedro. En las parroquias Petare,

Coche y Chaguaramos se determinó una disminución en la concentración viral luego a partir del 25 de octubre.

La Figura 4 representa los diferentes análisis de componentes principales que relacionan las variables fisicoquímicas y la concentración viral determinadas para cada sitio y fecha de muestreo. El análisis revela una relación entre la concentración viral detectada, la conductividad eléctrica y la temperatura. Aún cuando la correlación lineal entre las variables no fue significativa ( $p > 0,05$ ), los gráficos indican que existe una asociación entre estas variables, tanto espacial como temporalmente.



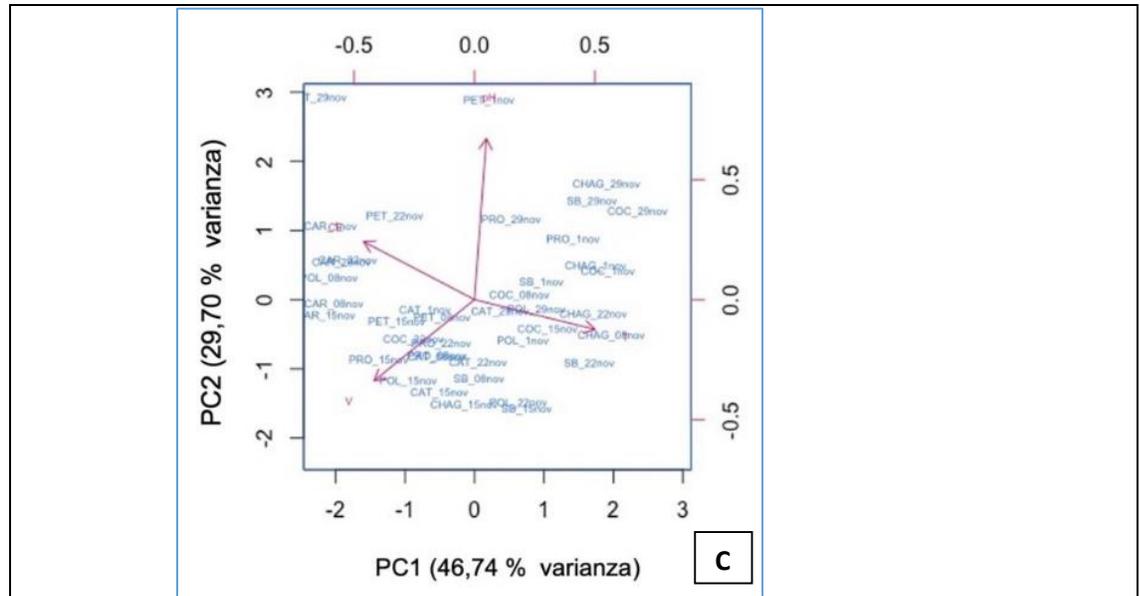
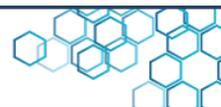


Figura 4. Análisis de componentes principales de variables fisicoquímicas y concentración viral en los diferentes sitios y fechas de muestreo. A: septiembre. B: octubre. C: noviembre. Fuente: Elaboración propia del autor (2023).

#### 4. Discusión de resultados

La epidemiología basada en aguas residuales ha mostrado carácter predictivo en algunas circunstancias, permitiendo mejorar la toma de decisiones relacionadas con el posible manejo de la enfermedad. Esta metodología, aplicada por primera vez en Venezuela por nuestro grupo de investigación, se vuelve esencial especialmente cuando se tienen limitaciones en el número de pruebas clínicas que podrían realizarse y un período relativamente largo para que las personas infectadas muestren síntomas [33]. Además, muestra un gran potencial

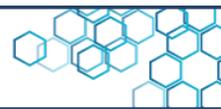


para proporcionar información completa sobre el estado de salud de manera integral y casi en tiempo real a nivel comunitario [34].

De las seis parroquias muestreadas, la de mayor densidad poblacional era Petare y, sin embargo, esta fue la parroquia que reportó el menor índice de positividad (69,2 %), seguida de San Pedro (76,9 %) que fue la segunda en densidad poblacional. Esto puede estar relacionado con la ubicación del punto de muestreo, para parroquias con una mayor superficie, como por ejemplo Petare (40 km<sup>2</sup> según INE) [35] puede resultar más adecuado realizar el muestreo en distintos puntos de la misma para así cubrir una mayor área y poder obtener resultados más concordantes. A esto se le suman otras variables como viviendas que no se encuentran conectadas al sistema de alcantarillado, cuyas aguas residuales son vertidas en quebradas y/o en el Río Guaire directamente.

Un aspecto que influye en el índice de positividad en las diferentes parroquias es el tipo del sistema de alcantarillado, porque en aquellos lugares donde el sistema es combinado, que recibe tanto aguas pluviales como aguas residuales en un solo sistema [36] se detecta menor concentración de partículas virales porque las muestras se encuentran más diluidas. En la ciudad de Caracas, al parecer la mayoría de las alcantarillas son combinadas, aspecto que se observó durante las campañas de muestreo.

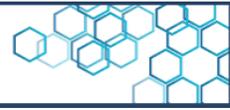
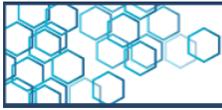
Asimismo, la disminución en el índice de positividad con el tiempo, del 96,9 % en septiembre a 82,5 % en noviembre, podría estar relacionado con la disminución en los casos reportados de COVID-19. Cabe destacar que a partir del mes de septiembre iniciaron las campañas de vacunación en el país [37] y esto también pudo influir en



la disminución en la cantidad de individuos infectados, y, por ende, la carga de SARS-CoV-2 en agua. A pesar de ello, la prueba de correlación de rangos de Spearman reveló que la concentración de SARS-CoV-2 detectada se correlacionó significativamente con el número de casos notificados, comprobándose la hipótesis de que la concentración del virus en aguas residuales refleja la cantidad de personas infectadas en la comunidad donde se realiza el muestreo (Figura 2).

De acuerdo con los datos del reporte diario de casos de COVID-19, el número fue mayor en la parroquia Sucre, seguida de la parroquia Caricuao. Nuestro sitio de muestreo en Catia (Parroquia Sucre) presentó igualmente altos valores de concentración viral en los tres meses de muestreo (Figura 3). Este es un sector que contempla un conjunto de urbanizaciones, barrios populares y sectores comerciales de gran densidad poblacional, lo que contribuye a tener una mayor prevalencia de la enfermedad en la zona. De igual forma, Caricuao fue otro de los puntos donde se obtuvieron valores altos de concentración viral, y en esta parroquia, con alta densidad poblacional y alta actividad comercial, se observó en las diferentes campañas de muestreo al igual que en Catia, que el cumplimiento de las medidas de bioseguridad era deficiente.

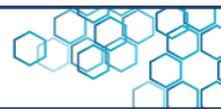
A diferencia de Sucre y Caricuao, las parroquias San Bernardino y San Pedro son parroquias residenciales, con una población predominantemente adulta, pero que también tienen una amplia presencia de hospitales y clínicas que atienden a buena parte de la población caraqueña. Tal y como lo explican Li et al. [38] la principal incertidumbre en la ubicación del punto de muestreo es tener en cuenta la presencia de cualquier hospital en la zona de captación de la muestra o puntos críticos interesados, ya que puede haber una alta



carga viral en agua motivado a la aglomeración de individuos infectados en un punto cercano al sitio de muestreo, tal como ocurre con el sitio identificado como Poliedro. Pero, por otro lado, también puede ocurrir una subestimación de la prevalencia de la enfermedad en una comunidad si los hospitales utilizan agentes químicos para eliminar el virus que luego también terminan en el sistema de aguas residuales.

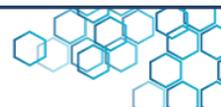
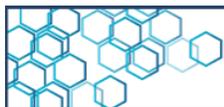
De forma similar a los resultados de este trabajo, varios autores han reportado esta correlación. Maida et al. [39], en Sicilia, Italia, evaluaron la presencia del SARS-CoV-2 en muestras de aguas residuales de nueve plantas de tratamiento, detectando una correlación con los casos notificados y georreferenciados en las áreas atendidas por las plantas de tratamiento en el periodo de estudio. Asimismo, Wurtzer et al. [40] compararon el promedio de copias de SARS-CoV-2 en muestras de aguas residuales tomadas en tres plantas de tratamiento de la zona parisina que recogen entre 3 y 4 millones de habitantes, y confirmaron que el aumento en la carga viral en las aguas residuales seguía con precisión el aumento del número de casos mortales observado a nivel regional y nacional.

La sensibilidad del ensayo en cada parroquia es afectada por diferentes variables, desde las características de cada parroquia, así como la ubicación del punto de muestreo, técnicas de recolección y preservación hasta la tasa de desintegración del ARN viral por la presencia de agentes fisicoquímicos o biológicos. En ese sentido, se determinó una potencial relación entre la persistencia viral en las aguas residuales y variables fisicoquímicas como la temperatura y la conductividad eléctrica, como se evidencia en la Figura 4. Sobre ello, se ha informado que existe un impacto significativo de las altas temperaturas en facilitar la descomposición del coronavirus en el agua



y las aguas residuales [41, 42, 43] y se mencionan otros factores como el nivel de materia orgánica, el pH y la disponibilidad de luz [44]. Las aguas residuales son una matriz compleja que contiene una gran cantidad de variables químicas que afectan la estructura del material genético del virus. Lo observado en la Figura 4 sugiere que la temperatura y la conductividad eléctrica (CE) podría estar relacionadas con la estabilidad de las partículas virales en el agua residual, pues a mayor CE podrían generar condiciones que favorezcan la persistencia del ARN en la matriz.

Los resultados de este estudio indican que la vigilancia ambiental del SARS-CoV-2 en aguas residuales en la ciudad de Caracas es un método útil y sencillo que permite la detección del virus y que además permite correlacionar la concentración viral con los casos de COVID-19 reportados. Además, este sistema puede servir como alerta temprana a brotes de enfermedades producidas por este y otros patógenos que son excretados al sistema de aguas residuales del país, por lo que si se aplica eficazmente puede ser útil para la vigilancia de epidemias. Los protocolos pueden continuar optimizándose con el fin de minimizar la incertidumbre analítica, mejorar la confiabilidad de futuros estudios, disminuir los sesgos y limitaciones para así establecer patrones de prevalencia del virus a lo largo del tiempo.

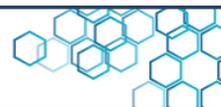
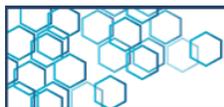


## **4. Conclusiones**

La aplicación de la epidemiología de aguas residuales, como una herramienta nueva en Venezuela aplicada a la vigilancia de SARS-CoV-2 en la Región Capital mostró ser de mucha utilidad como complemento de la vigilancia epidemiológica del virus. La correlación determinada entre la concentración viral en aguas residuales y los casos reportados comprueba que su aplicación permite establecer patrones temporales y espaciales y así monitorear la prevalencia del virus en la comunidad. Sobre esto, se determinó que los sectores Catia y Caricuao constituyeron focos calientes de la COVID-19. Esta es una información sumamente valiosa para establecer políticas públicas de control de epidemias.

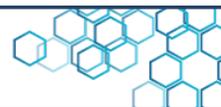
## **5. Financiamiento del proyecto**

Este proyecto fue financiado por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), ente adscrito al Ministerio del Poder Popular para Ciencia y Tecnología, Proyecto N° 20220PGP62, “Detección de SARS-CoV-2 en aguas servidas”.

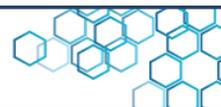


## 6. Referencias

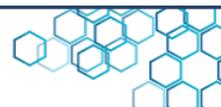
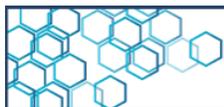
- [1] Sun P, Lu X, Xu C, Sun W, Pan B. Understanding of COVID-19 based on current evidence. *J Med Virol.* 2020;92(6):548–51. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25722>
- [2] Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021;19(3):141–54. <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- [3] Communicable Diseases. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. *Who.int. World Health Organization;* 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>
- [4] Peiris JSM, Lai ST, Poon LLM, Guan Y, Yam LYC, Lim W, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2003;361(9366):1319–25. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)13077-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13077-2)
- [5] Zaki AM, an Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a novel Coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* 2012;367(19):1814–20. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1211721>
- [6] D'Amico F, Baumgart DC, Danese S, Peyrin-Biroulet L. Diarrhea during COVID-19 infection: Pathogenesis, epidemiology, prevention, and management. *Clin. Gastroenterol Hepatol.* 2020;18(8):1663–72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2020.04.001>
- [7] Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, Knoops K, Puschhof J, Breugem TI, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science.* 2020;369(6499):50–4. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abc1669>



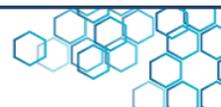
- [8] Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*. 2020;158(6):1831-1833.e3. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>
- [9] Lin L, Jiang X, Zhang Z, Huang S, Zhang Z, Fang Z, et al. Gastrointestinal symptoms of 95 cases with SARS-CoV-2 infection. *Gut*. 2020;69(6):997-1001. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321013>
- [10] Kim J-M, Kim HM, Lee EJ, Jo HJ, Yoon Y, Lee N-J, et al. Detection and isolation of SARS-CoV-2 in serum, urine, and stool specimens of COVID-19 patients from the republic of Korea. *Osong Public Health Res Perspect*. 2020;11(3):112-7. <http://dx.doi.org/10.24171/j.phrp.2020.11.3.02>
- [11] Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, et al. First case of 2019 novel Coronavirus in the United States. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(10):929-36. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa2001191>
- [12] Mallapaty S. How sewage could reveal true scale of coronavirus outbreak. *Nature*. 2020;580(7802):176-7. <http://dx.doi.org/10.1038/d41586-020-00973-x>
- [13] Hata A, Hara-Yamamura H, Meuchi Y, Imai S, Honda R. Detection of SARS-CoV-2 in wastewater in Japan during a COVID-19 outbreak. *Sci. Total Environ*. 2021;758(143578):143578. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143578>
- [14] Rothman JA, Loveless TB, Karpica J III, Adams ED, Steele JA, Zimmer-Faust AG, et al. RNA viromics of southern California wastewater and detection of SARS-CoV-2 single-nucleotide variants. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021;87(23). <http://dx.doi.org/10.1128/aem.01448-21>



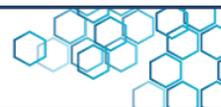
- [15] Berchenko Y, Manor Y, Freedman LS, Kaliner E, Grotto I, Mendelson E, et al. Estimation of polio infection prevalence from environmental surveillance data. *Sci. Transl. Med.* 2017;9(383). <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf6786>
- [16] Barril PA, Fumian TM, Prez VE, Gil PI, Martínez LC, Giordano MO, et al. Rotavirus seasonality in urban sewage from Argentina: Effect of meteorological variables on the viral load and the genetic diversity. *Environ. Res.* 2015;138:409–15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.004>
- [17] Daughton CG. Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new nonintrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit-abused drugs and their potential for ecological consequences. *ACS Symposium Series*. Washington, DC: American Chemical Society; 2001. p. 348–64.
- [18] Blomqvist S, El Bassioni L, El Maamoon Nasr EM, Paananen A, Kajjalainen S, Asghar H, et al. Detection of imported wild polioviruses and of vaccine-derived polioviruses by environmental surveillance in Egypt. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012;78(15):5406–9. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.00491-12>
- [19] Brouwer AF, Eisenberg JNS, Pomeroy CD, Shulman LM, Hindiyyeh M, Manor Y, et al. Epidemiology of the silent polio outbreak in Rahat, Israel, based on modeling of environmental surveillance data. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2018;115(45). <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1808798115>
- [20] Apostol LNG, Imagawa T, Suzuki A, Masago Y, Lupisan S, Olveda R, et al. Genetic diversity and molecular characterization of enteroviruses from sewage-polluted urban and rural rivers in the Philippines. *Virus Genes.* 2012;45(2):207–17. <http://dx.doi.org/10.1007/s11262-012-0776-z>
- [21] Tao Z, Wang H, Li Y, Xu A, Zhang Y, Song L, et al. Cocirculation of two transmission lineages of Echovirus 6 in Jinan, China, as revealed by environmental surveillance and



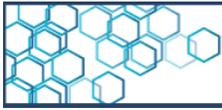
- sequence analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011;77(11):3786–92. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.03044-10>
- [22] Amdiouni H, Faouzi A, Fariat N, Hassar M, Soukri A, Nourlil J. Detection and molecular identification of human adenoviruses and enteroviruses in wastewater from Morocco: Molecular identification of HAdV and EV. *Lett. Appl. Microbiol.* 2012;54(4):359–66. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765x.2012.03220.x>
- [23] Bofill-Mas S, Pina S, Girones R. Documenting the epidemiologic patterns of polyomaviruses in human populations by studying their presence in urban sewage. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000;66(1):238–45. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.66.1.238-245.2000>
- [24] Clemente-Casares P, Pina S, Buti M, Jardí R, Martín M, Bofill-Mas S, et al. Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerg. Infect. Dis.* 2003;9(4):448–54. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0904.020351>
- [25] La Rosa G, Bonadonna L, Lucentini L, Kenmoe S, Suffredini E. Coronavirus in water environments: Occurrence, persistence and concentration methods - A scoping review. *Water Res.* 2020;179(115899):115899. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2020.115899>
- [26] Sala-Comorera L, Reynolds LJ, Martin NA, O'Sullivan JJ, Meijer WG, Fletcher NF. Decay of infectious SARS-CoV-2 and surrogates in aquatic environments. *Water Res.* 2021;201(117090):117090. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2021.117090>
- [27] Sims N, Kasprzyk-Hordern B. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environ. Int.* 2020;139(105689):105689. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>



- [28] Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- [29] Trujillo M, Cheung K, Gao A, Hoxie I, Kannoly S, Kubota N, et al. Protocol for safe, affordable, and reproducible isolation and quantitation of SARS-CoV-2 RNA from wastewater. *PLoS One*. 2021;16(9):e0257454. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0257454>
- [30] Medema G, Been F, Heijnen L, Petterson S. Implementation of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus to support public health decisions: Opportunities and challenges. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health*. 2020;17:49-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coesh.2020.09.006>
- [31] Wu F, Zhang J, Xiao A, Gu X, Lee WL, Armas F, et al. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *mSystems*. 2020;5(4). <http://dx.doi.org/10.1128/msystems.00614-20>
- [32] Flood MT, D'Souza N, Rose JB, Aw TG. Methods evaluation for rapid concentration and quantification of SARS-CoV-2 in raw wastewater using droplet digital and quantitative RT-PCR. *Food Environ. Virol.* 2021;13(3):303-15. <http://dx.doi.org/10.1007/s12560-021-09488-8>
- [33] Hamouda M, Mustafa F, Maraqa M, Rizvi T, Aly Hassan A. Wastewater surveillance for SARS-CoV-2: Lessons learnt from recent studies to define future applications. *Sci. Total Environ.* 2021;759(143493):143493. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143493>
- [34] Mao K, Zhang K, Du W, Ali W, Feng X, Zhang H. The potential of wastewater-based epidemiology as surveillance and early warning of infectious disease outbreaks. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health*. 2020;17:1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coesh.2020.04.006>



- [35] XIV Censo Nacional de Población y Vivienda. Resultados de Entidad Federal y Municipio del Estado Miranda. [http://www.ine.gob.ve/.  
http://www.ine.gob.ve/documentos/Demografia/CensodePoblacionyVivienda/pdf/miranda.pdf](http://www.ine.gob.ve/.http://www.ine.gob.ve/documentos/Demografia/CensodePoblacionyVivienda/pdf/miranda.pdf)
- [36] Chavarria-Miró G, Anfruns-Estrada E, Guix S, Paraira M, Galofré B, Sánchez G, et al. Sentinel surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater anticipates the occurrence of COVID-19 cases. *bioRxiv*. 2020. <http://dx.doi.org/10.1101/2020.06.13.20129627>
- [37] Venezuela recibe primer envío de vacunas contra la COVID-19 a través del Mecanismo COVAX. Paho.org. 2021. <https://www.paho.org/es/noticias/7-9-2021-venezuela-recibe-primer-envio-vacunas-contra-covid-19-traves-mecanismo-covax>
- [38] Li X, Zhang S, Shi J, Luby SP, Jiang G. Uncertainties in estimating SARS-CoV-2 prevalence by wastewater-based epidemiology. *Chem. Eng. J.* 2021;415(129039):129039. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2021.129039>
- [39] Maida CM, Amodio E, Mazzucco W, La Rosa G, Lucentini L, Suffredini E, et al. Wastewater-based epidemiology for early warning of SARS-COV-2 circulation: A pilot study conducted in Sicily, Italy. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2022;242(113948):113948. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.113948>
- [40] Wurtzer S, Marechal V, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, et al. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. *bioRxiv*. 2020. <http://dx.doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>
- [41] Kitajima M, Ahmed W, Bibby K, Carducci A, Gerba CP, Hamilton KA, et al. SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. *Sci. Total Environ.* 2020;739(139076):139076. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076>



- [42] Carducci A, Federigi I, Liu D, Thompson JR, Verani M. Making Waves: Coronavirus detection, presence and persistence in the water environment: State of the art and knowledge needs for public health. *Water Res.* 2020;179(115907):115907. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2020.115907>

