



Detecção de SARS-CoV-2 em esgoto de estabelecimento penal e de hospital universitário: protocolos e padronizações das coletas

Detection of SARS-CoV-2 in wastewater from a penal establishment and an university hospital: protocols and standardization of collections

Carmem Cícera Maria da Silva¹, Kamily Fagundes Pussi², Eliomar Pivante Céleri¹, David Salles¹, Julia Miranda Fardin¹, Carolina Rangel de Lima Santos², Marcelo dos Santos Barbosa², Thays Ohana dos Santos Romeiro², Rosangela Maria Ferreira da Costa e Silva³, Daniel Claudio de Oliveira Gomes¹, Vinicius de Oliveira Ribeiro³, Leila Cristina Konradt Moraes³, Herintha Coeto Neitzke-Abreu², Valdemar Lacerda Júnior¹

RESUMO

Introdução: O monitoramento de esgoto como forma de controle da covid-19 é reconhecido mundialmente desde 2020. A confiabilidade dos resultados depende de uma metodologia representativa de todas as variáveis envolvidas no processo. As peculiaridades de cada ambiente de coleta tornam a padronização de procedimentos um processo árduo e não linear. **Objetivo:** Este relato visa mostrar os desafios e as superações no processo de coleta e armazenamento das amostras de águas residuárias. **Métodos:** Coleta de amostras de esgoto para análise físico-química e molecular para detecção de SARS-CoV-2 em um estabelecimento penal de regime semiaberto e em um hospital universitário. **Relato de experiência:** As coletas foram realizadas de forma efetiva e encaminhadas aos laboratórios de Nível de Biossegurança 2 para os procedimentos iniciais de pré-filtração e concentração do SARS-CoV-2. As dificuldades encontradas foram: burocracia na tramitação da liberação para execução do projeto, especificidade das tubulações, diferença na representatividade das amostras, necessidade de rapidez no transporte das amostras, ambientes insalubres nas estruturas físicas dos esgotos avaliados, apresentando riscos físicos e biológicos para a equipe. **Conclusão:** O aspecto principal do estudo foi a caracterização físico-química e o monitoramento do material genético do SARS-CoV-2, porém, devido às dificuldades encontradas inicialmente, mostrou-se necessária a padronização em futuros projetos de águas residuárias.

Palavras-chave: Águas residuárias; SARS-CoV-2; Instituição penal; Hospital universitário.

ABSTRACT

Introduction: Sewage monitoring as a way to control COVID-19 is recognized worldwide since 2020. The reliability of the results depends on a representative methodology of all the variables involved in the process. The peculiarities of each collection environment make the standardization of procedures an arduous and non-linear process. **Objective:** This report aims to show the challenges and overcoming in the process of collecting and storing wastewater samples. Methods: collection of sewage samples for physical-chemical and molecular analysis for the detection of SARS-CoV-2, from a semi-open penal establishment and a university hospital. **Experience report:** The collections were carried out effectively and sent to Biosafety Level 2 laboratories for the initial procedures of pre-filtration and concentration of SARS-CoV-2. The difficulties encountered were: bureaucracy in the process of releasing the project execution, specificity of the pipes, difference in the representativeness of the samples, need for speed in the transport of the samples, unhealthy environments in the physical structures of the evaluated sewage, presenting physical and biological risks for the team. **Conclusion:** The main aspect of the study was the physical-chemical characterization and monitoring of the genetic material of SARS-CoV-2, but difficulties encountered initially, showed the need for standardization in future wastewater projects.

Keywords: Wastewater, COVID-19, Penal institution, Hospitals University.

¹ Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória/ES, Brasil.

² Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados/MS, Brasil.

³ Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul. Dourados/MS, Brasil.

Correspondência:

carmemcenos@gmail.com

Direitos autorais:

Copyright © 2023 C. C. M. Silva, K. F. Pussi, E. P. Céleri, D. Salles, J. M. Fardin, C. R. L. Santos, M. S. Barbosa, T. O. S. Romeiro, R. M. F. C. Silva, D. C. O. Gomes, V. O. Ribeiro, L. C. K. Moraes, H. C. N. Abreu, V. Lacerda Júnior.

Licença:

Este é um artigo distribuído em Acesso Aberto sob os termos da Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.

Submetido:

7/8/2023

Aprovado:

13/11/2023

ISSN:

2446-5410

INTRODUÇÃO

A pandemia da covid-19, iniciada em 2020 e persistente mesmo depois da disponibilização do programa de vacinação da população mundial, mostrou a necessidade de procedimentos e protocolos rápidos e eficazes na determinação e no controle da doença. Dentre as técnicas de grande relevância no controle epidemiológico, a epidemiologia baseada em águas residuárias tem sido apontada como uma solução eficaz e de baixo custo, bem como utilizada como dados adicionais para apoiar estudos clínicos e estabelecer ações preventivas para reduzir infecções comunitárias¹.

Em novembro de 2020, foi apresentado um dos primeiros estudos utilizando águas residuárias como forma de detecção de contaminação por SARS-CoV-2²⁻³. Nesse período de quase dois anos, vários estudos foram apresentados, confirmando a eficiência da metodologia em determinação da incidência da doença⁴⁻⁶. A notoriedade desse tipo de análise em termos de população se deve às vias de transmissão do vírus, que incluem fluidos corporais, urina e fezes⁷.

Há relatos de persistência de RNA viral por até 25 dias em fezes e a detecção em população assintomática que representa quase 50% dos contaminados, e, portanto, agentes transmissores com alto potencial de contaminação⁸⁻⁹. O monitoramento da rede de esgoto se demonstra necessário, uma vez já evidenciado que o aumento na detecção viral na rede precede o aumento no número de casos em humanos¹⁰.

Inúmeras variáveis podem influenciar os resultados das análises. Alhama e colaboradores¹¹ citam como fatores relevantes: temperatura, horário de amostragem, amostras compostas, metodologia de concentração e detecção de RNA viral e necessidade de procedimentos padronizados com possibilidade de adaptação às condições intrínsecas do ambiente de análise.

Portanto, este estudo teve como objetivos relatar situações vivenciadas durante as coletas de amostras de águas residuárias do sistema de esgoto em dois pontos distintos, sendo um estabelecimento penal de regime semiaberto e um hospital

universitário, buscando uma padronização e um desenvolvimento de medidas sanitárias que possam ser utilizadas para a detecção prévia do vírus SARS-CoV-2 na rede de esgoto, ampliando o entendimento da atuação complexa que antecede a parte da pesquisa.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo de caráter reflexivo, social, tipo relato de experiência, elaborado pelos grupos de pesquisa da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) e Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). As coletas aconteceram em tempos distintos devido aos projetos envolverem essas três universidades. Os locais dos estudos ficaram definidos em estabelecimento penal de regime semiaberto (Ponto A) e um hospital universitário (Ponto B).

RELATO DE EXPERIÊNCIA

As coletas no Ponto A foram iniciadas em setembro de 2022, após autorização concedida pela agência administradora do sistema penitenciário de Mato Grosso do Sul. O grupo de pesquisa foi até o local a fim de conhecer o funcionamento e a distribuição do sistema de esgoto. Foi observado um ponto externo, anterior à estação de tratamento, que reúne o fluxo do esgoto de todo o semiaberto (Figura 1-A). Amostras semanais foram coletadas por seis meses, às 17h, horário em que retornam os internos que trabalham fora da instituição durante o dia e que, com isso, aumenta a vazão do esgoto gerado. O tempo de coleta foi estimado em uma hora e o volume final da amostra foi de 1 litro (200 mL a cada 15 minutos). Um coletor, cedido pela empresa de tratamento de efluentes da cidade de Dourados/MS, foi utilizado na coleta (Figura 1-B). As amostras foram armazenadas em caixa térmica, em temperatura aproximada de 10°C (Figura 1-C) e encaminhadas aos laboratórios de Nível de Biossegurança 2 (NB2) das respectivas instituições de pesquisa.

As coletas no Ponto B seguiram os mesmos procedimentos em relação à solicitação de autorização. Durante a visita de observação do funcionamento do sistema de esgoto (Figura 1-D), verificou-se o maior fluxo de águas residuárias às 7 horas, resposta aos protocolos internos da instituição, como horário de banho dos pacientes, assepsias locais e um maior número de pacientes que dão entrada para intervenções cirúrgicas. O coletor foi descartado a cada coleta com objetivo de minimizar possíveis contaminações (Figura 1-E) e foi adaptado por um recipiente plástico de 20 litros e cordas de nylon. O tempo de coleta e a forma de armazenamento foi o mesmo utilizado no Ponto A.

Cuidados na avaliação de riscos ergonômicos, físicos, mecânicos e biológicos foram seguidos para a segurança de toda a equipe envolvida. Foram utilizados Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), como jalecos descartáveis e impermeáveis, propé, máscaras e luvas (Figura 1-F). As amostras que continham uma grande quantidade de material orgânico passaram por uma etapa denominada pré-filtração antes de serem concentradas, posteriormente foram processadas e a extração do material genético se deu através dos kits/insumos e protocolos recomendados pelos laboratórios de referência do Ministério da Saúde.



FIGURA 1. A: Ponto de coleta do esgoto do estabelecimento penal. B: Coletor utilizado durante as coletas no estabelecimento penal. C: Acondicionamento das amostras em caixa térmica apropriada. D: Ponto de coleta do esgoto do hospital universitário. E: Coletor utilizado durante as coletas no hospital universitário. F: EPIs utilizados durante as coletas. Fonte: Arquivo pessoal dos autores.

DISCUSSÃO

Neste relato, detectou-se vários quesitos que são essenciais antes, durante e após a realização dos procedimentos por meio da experiência obtida a partir das coletas de amostras de águas residuárias nos locais citados.

A primeira etapa na realização de um projeto de pesquisa é a obtenção dos documentos, que inclui a autorização prévia emitida pelos órgãos competentes responsáveis pelos estabelecimentos, consentindo com a execução do trabalho. Neste relato, o processo para anuência dessa autorização levou em média 60 dias, tempo postergado devido a questões burocráticas e recessos administrativos. No período da pandemia em que o estudo foi conduzido, havia uma falta de conhecimento científico sobre a disseminação do vírus, o que gerava incertezas quanto às melhores estratégias para monitoramento, prevenção e combate ao vírus¹². Portanto, era crucial lidar rapidamente com as questões burocráticas, uma vez que o monitoramento ambiental para SARS-CoV-2 é uma ferramenta complementar à vigilância epidemiológica¹³⁻¹⁴.

Outra questão essencial a ser analisada seria o ponto de coleta diante das particularidades, das especificidades de tubulação, do tamanho e da profundidade do esgoto. Ao se deparar com a diferença entre as tubulações nos dois estabelecimentos, foi necessária a realização de adaptações de instrumentos para serem utilizados como coletores. Estudos demonstram diversidades na coleta de amostras de águas residuárias através da utilização de garrafas plásticas ou até mesmo sacos, evidenciando a necessidade de uma padronização, a fim de obter mais representatividade e mitigar contaminações¹⁵⁻¹⁶.

Os horários de coleta foram diferentes nos dois estabelecimentos. Para que o volume coletado reflita representatividade do local de estudo, Parida *et al.*¹⁷ demonstrou que o volume para detecção de SARS-CoV-2 em águas residuárias pode variar de 200 mL a 2 litros. Diante disso, um ponto importante é padronizar os horários de coleta com o maior fluxo do esgoto, constatando a necessidade de observações e visitas diárias nas instituições para conhecimento do funcionamento da realidade local.

Após a coleta, as amostras devem ser armazenadas em temperatura média de 10°C, no período máximo de 24 horas; com isso, a logística entre o ponto de coleta e o laboratório de pesquisa deve ser favorável para que seja conservado o RNA viral¹⁸. O armazenamento posterior deve ser feito em temperatura de -80 °C até as próximas análises.

Ainda, antes da análise molecular, amostras oriundas de águas residuárias necessitam de processamento dividido em duas principais etapas: necessidade de pré-filtração em amostras que apresentam grande quantidade de matéria orgânica, a fim de melhorar a concentração viral¹⁹⁻²⁰; e a própria concentração viral. Em nosso trabalho, realizamos a filtração com peneira e concentração por precipitação com polietilenoglicol (PEG). Várias técnicas já foram descritas quanto a esse procedimento, e a precipitação com PEG tem se mostrado eficaz para concentrar o SARS-CoV-2 em amostras de água e águas residuárias¹⁵.

Em relação aos riscos durante as coletas, os principais foram elencados: 1) riscos físicos: tampo de esgoto pesado, sendo necessária mais de uma pessoa para sua abertura, além de haver riscos na ocorrência de acidentes; presença de insetos e animais peçonhentos em todos os pontos de coletas que se encontravam afastados da instituição e em meio à natureza. 2) riscos biológicos: coleta de esgoto de instituição hospitalar e estabelecimento penal, contendo diversos tipos de microorganismos, como bactérias, protozoários, vírus, fungos; na penitenciária isso acontece devido à facilidade de contaminação entre internos, devido ao compartilhamento de objetos, local fechado e sem ventilação²¹.

Os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (*Centers for Disease Control and Prevention – CDC*)²² também evidenciam que indivíduos que trabalham com coletas de águas residuárias apresentam mais chances de contrair doenças transmitidas pela água, com isso preconizam o uso de EPIs corretos, o treinamento para correta utilização, as precauções de higiene, principalmente das mãos, e ainda o descarte dos materiais são de suma importância. Kasloff *et al.*²³ selecionaram diversos EPIs utilizados durante a pandemia e demonstraram

a persistência de SARS-CoV-2 em até 21 dias em máscaras e sete dias em luvas.

Outro ponto a ser observado antes da realização das coletas é a previsão do tempo — pelas experiências obtidas, não é aconselhada a realização em dias com temperatura muito elevada devido ao uso dos EPIs, que aumenta a temperatura corporal, e também em dias chuvosos devido aos riscos de quedas, diluição da amostra e diversos contratempos como raios, alagações, entre outros.

CONCLUSÃO

A grande vertente foi monitorar o material genético do SARS-CoV-2 e sua caracterização físico-química, porém algumas dificuldades encontradas em meio a essa etapa inicial demonstraram necessidade de padronização, planejamento e manipulação para futuros projetos envolvendo águas residuárias.

REFERÊNCIAS

- 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.
- Prado T, Fumian TM, Mannarino CF, Resende PC, Motta FC, Eppinghaus ALF, et al. Wastewater-based epidemiology as a useful tool to track SARS-CoV-2 and support public health policies at municipal level in Brazil. *Water Res.* 2021; 191:116810.
- Li R, Pei S, Chen B, Song Y, Zhang T, Yang W, et al. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Sci.* 2020; 368(6490):489-493.
- Desdoutis M, Piquet JC, Wacrenier C, Le Mennec C, Parnaudeau S, Jousse S, et al. Can shellfish be used to monitor SARS-CoV-2 in the coastal environment?. *Sci Total Environ.* 2021; 778:146270.
- Albastaki A, Naji M, Lootah R, Almeheiri R, Almulla H, Almarri I, et al. First confirmed detection of SARS-COV-2 in untreated municipal and aircraft wastewater in Dubai, UAE: The use of wastewater based epidemiology as an early warning tool to monitor the prevalence of COVID-19. *Sci Total Environ.* 2021; 760:143350.
- Hemalatha M, Kiran U, Kuncha SK, Kopperi H, Gokulan CG, Mohan SV, et al. Surveillance of SARS-CoV-2 spread using wastewater-based epidemiology: Comprehensive study. *Sci Total Environ.* 2021; 768:144704.
- Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe.* 2021; 2(1):e13-e22.
- 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):502-505.
- Weidhaas J, Aanderud ZT, Roper DK, VanDerslice J, Gaddis EB, Ostermiller J, et al. Correlation of SARS-CoV-2 RNA in wastewater with COVID-19 disease burden in sewersheds. *Sci Total Environ.* 2021; 775:145790.
- De Sousa ARV, Silva LDC, de Curcio JS, Delleon H, Anunciação CE, Furlaneto SMSI, et al. Detecção de SARS-CoV-2 em águas residuárias como ferramenta de predição de infectados de uma capital da região centro-oeste do Brasil. *Braz J Infec Dis.* 2020; 26:102024.
- Alhama J, Maestre JP, Martín MÁ, Michan C. Monitoring COVID-19 through SARS-CoV-2 quantification in wastewater: progress, challenges and prospects. *Microbi Biotechnol.* 2022; 15(6):1719-1728.
- Barreto ML, Barros AJDD, Carvalho MS, Codeço CT, Hallal PRC, Medronho RDA, et al. O que é urgente e necessário para subsidiar as políticas de enfrentamento da pandemia de COVID-19 no Brasil?. *Rev Bras Epidemiol.* 2020; 23.
- McQuade ETR, Blake IM, Brennhof SA, Islam MO, Sony SSS, Rahman T, et al. Real-time sewage surveillance for SARS-CoV-2 in Dhaka, Bangladesh versus clinical COVID-19 surveillance: a longitudinal environmental surveillance study (December, 2019–December, 2021). *The Lancet Microbe.* 2023.
- Kasprzyk-Hordern B, Bijlsma L, Castiglioni S, et al. Wastewater-based epidemiology for public health monitoring. *Water and Sewerage Journal.* 2014; 4:25-26.
- Ahmed W, Bertsch PM, Bivins A, Bibby K, Gathercole A, Haramoto E, et al. Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR-based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. *Sci Total Environ.* 2020; 739:139960.
- Haramoto E, Malla B, Thakali O, Kitajima M. First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. *Sci Total Environ.* 2020; 737:140405.
- Parida VK, Saidulu D, Bhatnagar A, Gupta AK, Afzal MS. A critical assessment of SARS-CoV-2 in aqueous environment: Existence, detection, survival, wastewater-based surveillance, inactivation methods, and effective management of COVID-19. *Chemosphere.* 2023; 138503.
- Leal CD, Espinosa AMF, Araújo JC. Roteiros para análises e determinações em amostras de esgoto. Roteiro 5: Concentração e quantificação do novo coronavírus por técnicas moleculares. *Eng Sanit e Ambient.* 2022; 2(4):33-40.
- Bofill-Mas S, Rusiñol M. Recent trends on methods for the concentration of viruses from water samples. *Curr Opin Environ Sci Health.* 2020; (16):7-13.

20. Patel M, Chaubey AK, Pittman Jr, CU, Mlsna T, Mohan D. Coronavirus (SARS-CoV-2) in the environment: occurrence, persistence, analysis in aquatic systems and possible management. *Sci Total Environ.* 2021; 765:142698.
21. Yang Q, Rivailler P, Zhu S, Yan D, Xie N, Tang H, et al. Detection of multiple viruses potentially infecting humans in sewage water from Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. *Sci Total Environ.* 2021; 754:142322.
22. Centers for Disease Control and Prevention. Handling Human Waste or Sewage | Water, Sanitation, & Hygiene-related Emergencies & and Outbreaks | Healthy Water | CDC [Internet]. 2022 [cited 2023 May 23]. Available from: https://www.cdc.gov/healthywater/emergency/sanitation-wastewater/workers_handlingwaste.html.
23. Kasloff SB, Leung A, Strong JE, Funk D, Cutts T. Stability of SARS-CoV-2 on critical personal protective equipment. *Sci Rep.* 2021; 11(1):1-7.

DECLARAÇÕES

Agradecimentos

À Fundação de Apoio de Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT), pelo apoio e suporte financeiro, e à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), ao Núcleo de Doenças Infecciosas (NDI), à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e ao Laboratório de Pesquisa de Ciência e Saúde (LPCS), pela realização dos testes físico-químicos e biomoleculares.

Contribuição dos autores

Concepção: VLJ, CCMDS. Metodologia: DS, JMF, MSB, CRLS, TOSR, KFP, LCKM, VOR, RMFCS, EPC, HCN-A, DCOG. Coleta de dados: DS, JMF, MSB, CRLS, TOSR, KFP, LCKM, VOR, RMFCS, EPC, HCN-A, DCOG, VLJ, CCMDS. Tratamento e análise de dados: JMF, TOSR, CRLS, EPC, HCN-A, DCOG, KFP. Discussão dos resultados: DS, JMF, MSB, CRLS, TOSR, KFP, LCKM, VOR, RMFCS, EPC, HCN-A, DCOG, VLJ, CCMDS. Redação: Todos os autores. Revisão: Todos os autores. Aprovação da versão final: Todos os autores. Supervisão: VLJ, CCMDS.

Financiamento

Pesquisa realizada com apoio da Fundação de Apoio de Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Disponibilidade de dados de pesquisa e outros materiais

Dados de pesquisa e outros materiais podem ser obtidos por meio de contato com os autores.

Editores responsáveis

Carolina Fiorin Anhoque, Blima Fux, Mara Rejane Barroso Barcelos.

Endereço para correspondência

Rua Doutor Moacyr Gonçalves, 129, Jardim da Penha, Vitória /ES., Brasil, CEP: 290600-445.