



VI

CONGRESO LATINOAMERICANO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

II

CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA



¡El riesgo es que te quieras quedar!

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

VIGILANCIA AMBIENTAL DEL SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES: HERRAMIENTA ÚTIL EN EL SEGUIMIENTO DE LA COVID-19

Bárbara Julia Arroyo Salgado. BLC.MSc. PhD.

Universidad de Cartagena

Facultad de Medicina

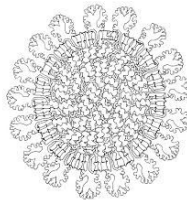
Grupo de Investigación Ciencias Biomédicas, Toxicológicas y Ambientales



ÍNDICE



CONTEXTO EN EL TIEMPO DE SARS-CoV-2



GENERALIDADES DE SARS-CoV-2



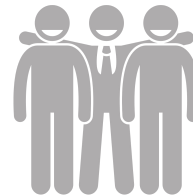
SARS-CoV-2 EN AGUAS RESIDUALES



PRECONCENTRACIÓN Y DETECCIÓN DEL CORONAVIRUS EN AGUAS RESIDUALES

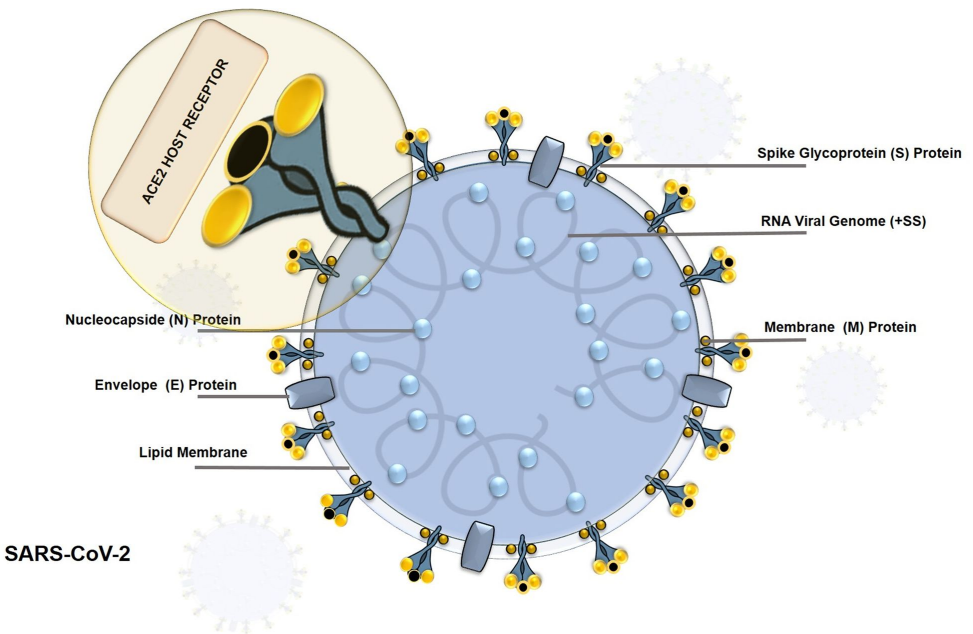


TECNOLOGÍAS DE DETECCIÓN CONVENCIONALES Y AVANZADAS DEL SARS-COV-2



PERSPECTIVAS DE INTEGRACIÓN DE LA PRECONCENTRACIÓN Y DETECCIÓN DEL SARS-COV-2 CON TECNOLOGÍAS EMERGENTES





SARS-CoV-2

2003.
SARS-CoV-1

Síndrome Respiratorio Agudo grave en países del sur de Asia.

2012.
MERS-CoV

Síndrome Respiratorio del Medio Oriente, Arabia Saudita.

2019.
SARS-CoV-2

La enfermedad COVID-19 Wuhan, China

2024. OMS

7.057.132 fallecidos a nivel mundial.

2024.
Colombia

6.391.876 casos confirmados y hasta agosto de 2024 se presentaron 3,95 casos por cien mil habitantes y un total de 147.727 fallecidos

SS, Proteína S (S1,S2), M, N, E, HE,3 y 7a, Dominio de Unión al Receptor (RBD), entre otras

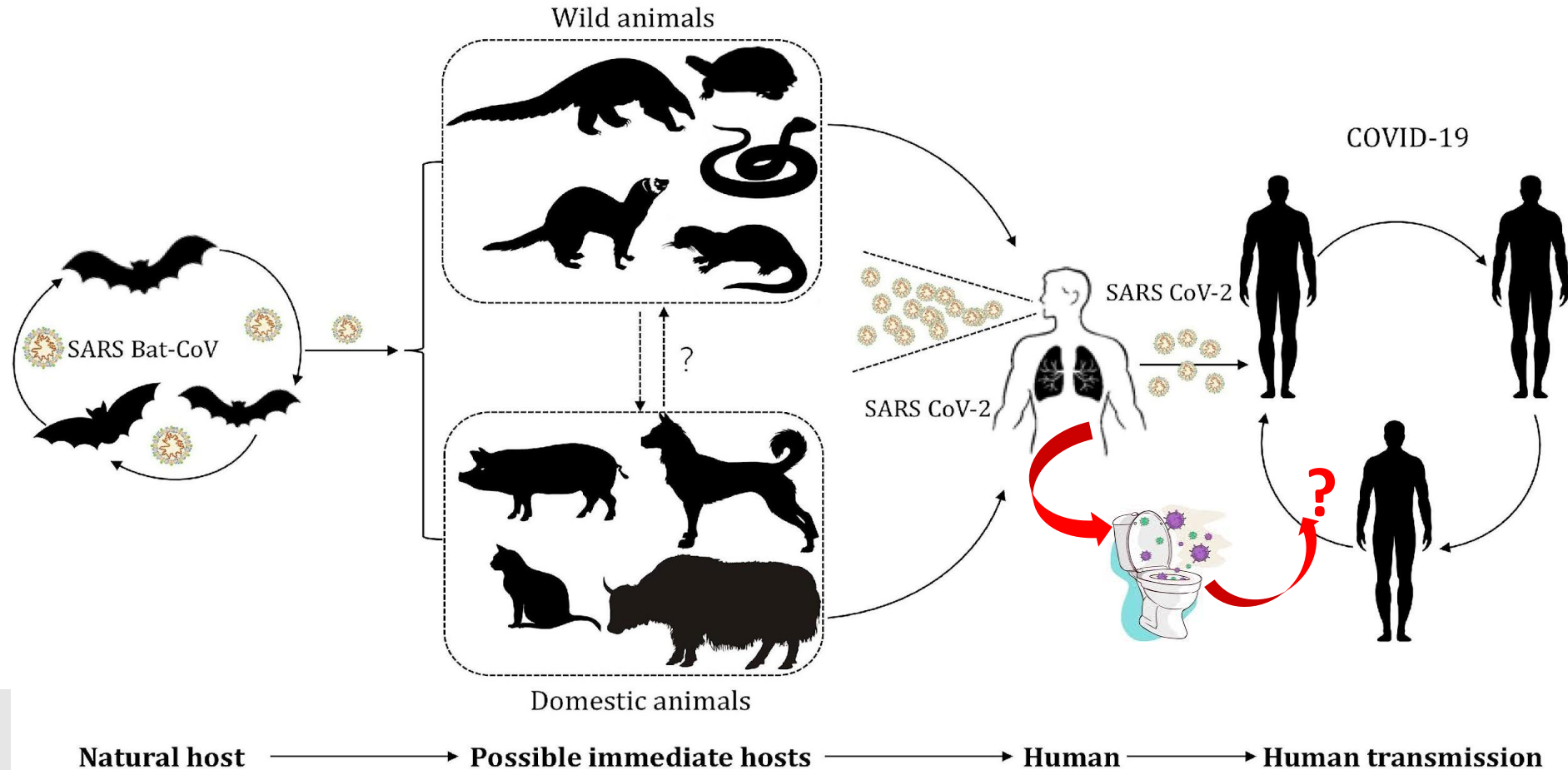
ACE2 y TMPRSS2 co-receptor: tejidos pulmonares, gastrointestinales, hepáticos, renales y pancreáticos.



La COVID-19 ya no es una emergencia de salud pública de interés internacional, la enfermedad infectó a ~770 millones de personas y causó ~6,9 millones de muertes en todo el mundo, OMS 2023.

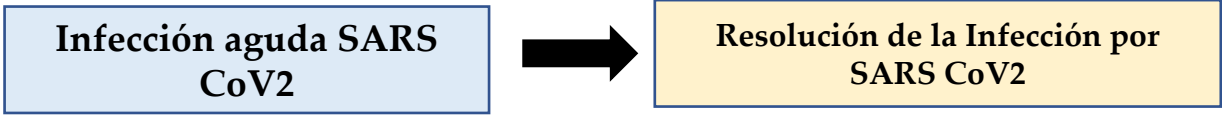


Transmisión



Adaptado de: Zhao, J., et al., 2020

TIPOS DE INFECCIÓN

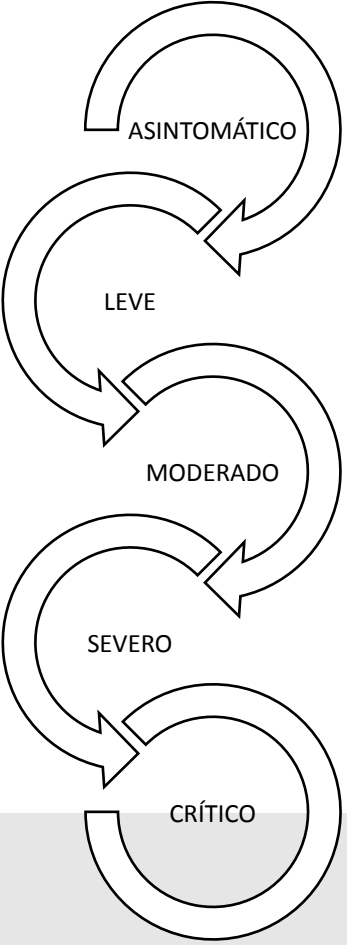


Riesgo de los individuos
 Primaria o secundaria
 Inmunodeficiencia
 factores de riesgo desconocido en individuos saludables

30 días

El aislamiento de virus competentes
 Acumulación de mutaciones a lo largo del tiempo en un único linaje viral infectante
 Valores umbral de CT hasta 30 o bajo, positividad de la prueba de antígeno
 ARN subgenómico detectable o síntomas continuos.

Infección persistente SARS CoV2



Infecciones asintomáticas o paucisintomáticas
 Excreción persistente de ARN viral del SRAS-CoV-2 en ausencia de síntomas claramente indicativos de COVID-19.

Infecciones remitentes y recidivantes
 Periodos asintomáticos o paucisintomáticos seguidos de episodios de síntomas similares a los de la COVID-19

Infección crónica
 Síntomas continuos
 Progresivos : síntomas respiratorios, síntomas sistémicos o síntomas tanto respiratorios como sistémicos.

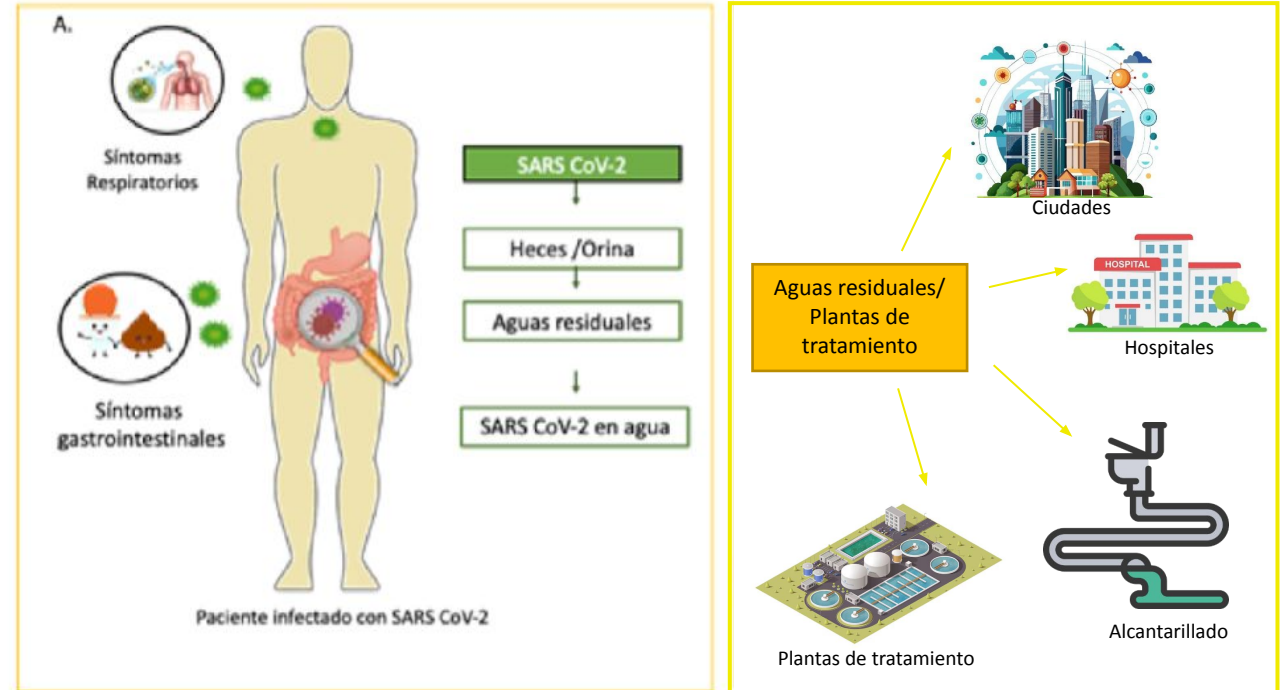
Establecimiento de reservorios virales
 Detección de virus nasofaríngeos persistentes o recidivantes
 Replicación persistente del SARS-CoV-2 en tejidos



- ❖ **Virus entéricos (ecosistemas acuáticos). Amenaza mundial.**
- ❖ **Estrategias de gestión.**
- ❖ **Protección de riesgos de la salud frente a la globalización de estos agentes.**

Aguas ambientales *Poliomavirus humanos, bocavirus, circovirus, coronavirus y virus influenza*

Aguas residuales: *Rotavirus, sapovirus, astrovirus y hepatitis E.*



Hasta **17** días en el tracto respiratorio superior
 Hasta **14** días en el tracto respiratorio inferior
16 días en suero
 Hasta **17-22** días en las heces
 Excreción de ARN vírico de hasta **83** días en el tracto respiratorio superior
 y **126** días en las heces.





Organización Mundial de la Salud (OMS)

Variantes de interés (VOI) XBB.1.5 (clado 23 A), XBB.1.16 (clado 23B) y EG.5 (sin asignar)
Variantes bajo seguimiento (VUM) DV.7, XBB, XBB.1.9.1 y XBB.2.3

<https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>

Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC)

XBB.1.5, BA.2, BA.2.75 y XBB

<https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/country-overviews>

NOMBRE OMS	VARIANTE	FILOGENÉTICA	FECHA DE IDENTIFICACIÓN	DETECCIÓN EN AGUAS RESIDUALES	REFERENCIA
ALPHA	Británica	Clado GR, linaje B.1.1.7 (GISAID) o al clado 20I / 501Y.V1 (Nextstrain)	14-12-2020	01- 2020 A 02-2021 Israel.	Nemudryi A et al., 2020.
BETA	Sudafricana	Clado GH, linaje B.1.351 (GISAID) o 20H / 501Y.V2 (Nextstrain)	18-12-2020 Transmisibilidad.	Perugia, Italia	Li et al., 2020 Rosa et al., 2021.
GAMMA	Brasilera	Clado GR linaje P.1 (GISAID) o 20 J / 501Y.V3 (Nextstrain)	01-2021 / Japón, viajeros provenientes de Brasil.	Perugia, Italia	Li et al., 2020
DELTA	India	B.1.617.2	12-2020 / India	NI	Pascarella et al., 2021.
EPSILON	California	Clado GH, linaje B.1.429 (GISAID), también denominado CAL.20C	17-01-2021 California	NI	Crits-Christoph et al., 2021
ÓMICRON	Sudáfrica	B.1.1.529	Noviembre de 2021	Detectada en aguas residuales	CDC, 2024
KAPPA	India	B.1.617.1	Diciembre de 2020	Detectada en aguas residuales	CDC, 2024
ZETA	Brasil	P.2	Abril de 2020	Detectada en aguas residuales	CDC, 2024
MU	Colombia	B.1.621	Enero de 2021	Detectada en aguas residuales	CDC, 2024
					Wolfe et al., 2022



Estudios relevantes...

Países Bajos (Medema y col., 2020)

Australia (Ahmed y otros, 2020a)

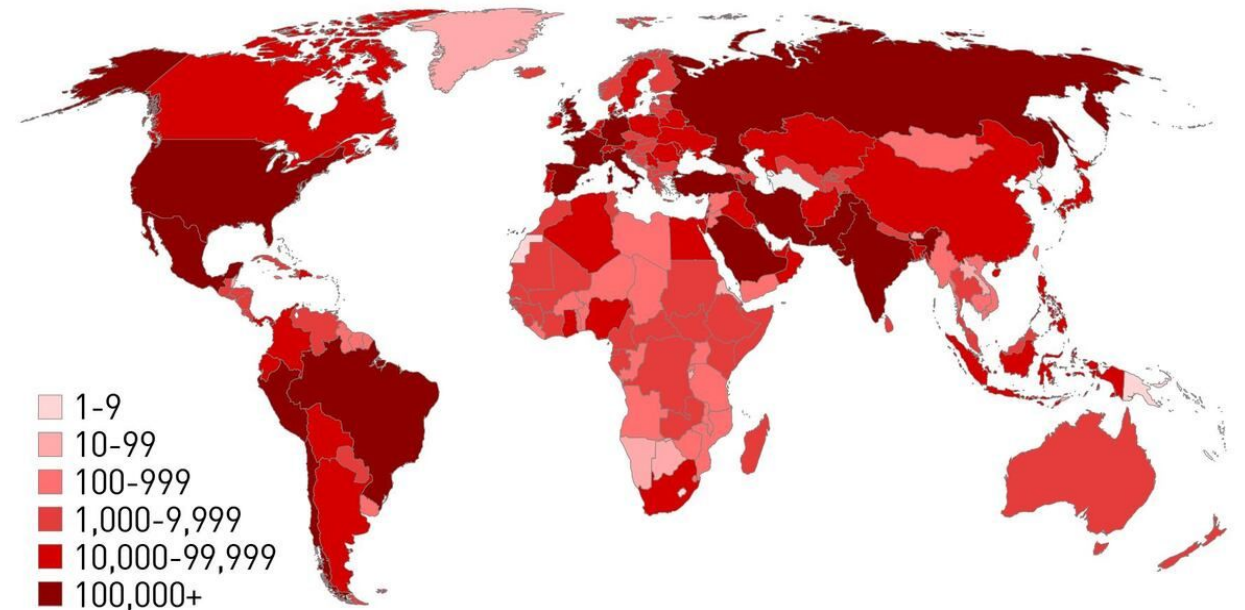
India (Kumar y otros, 2023)

Nueva Inglaterra (Toledo y otros, 2022)

Japón (Kagami y otros, 2023)

Estados Unidos de América (Sherchan y otros, 2020)

China (Yang y otros, 2022).



CBC NEWS

Source: China Health Ministry / Johns Hopkins University, WHO





India

Indonesia

Pakistán

Bangladesh

Nepal

África

Colombia

Guatemala

Bolivia



COVID-19 y situación sanitaria de los países en desarrollo y menos adelantados.

S. Núm.	País	una población de (en miles de millones)	b Número de casos confirmados de COVID 19	b Número de muertes reportadas debido a COVID 19	c Capacidad de prueba (Pruebas/1000 personas)	**Saneamiento (%) (2017)			
						Al menos básico	Limitado (compartido)	Sin mejorar	Defecar al aire libre
Asia									
1.	India	1.4	4.113.811	70.626	35,91	60	13	2	26
2.	Indonesia	0,271	190.665	7940	5.12	73	12	5	10
3.	Pakistán	0,217	298.509	6342	12.48	60	10	20	10
4.	Bangladés	0,163	323.565	4447	9.89	48	23	29	<1
5.	Birmania	0,054	1319	8	3.25	64	9	17	9
6.	Afganistán	0,038	38.398	1412	–	43	10	34	13
7.	Nepal	0,028	45.277	280	26.37	62	14	3	21
África									
8.	Nigeria	0,201	54.905	1054	2.04	39	21	21	20
9.	Etiopía	0,112	57.466	897	9.08	7	7	63	22
10.	Sudáfrica	0,059	636.884	14.779	64.07	76	15	8	1
11.	Kenia	0,053	35.020	594	8.82	29	22	38	10
12.	Uganda	0,044	3539	39	9.00	18	18	58	6
13.	Ghana	0,030	44.777	283	14.51	18	50	13	18
América Latina									
14.	Colombia	0,050	650.062	20.888	54,56	90	5	2	3
15.	Guatemala	0,018	77.481	2845	–	65	12	19	5
16.	Bolivia	0.012	119.580	5343	21.58	61	17	9	13

[Abrir en una ventana separada](#)

** Programa conjunto de la OMS y el UNICEF para el seguimiento del abastecimiento de agua, el saneamiento y la higiene. Estimaciones sobre el uso del agua, el saneamiento y la higiene por país (2000-2017). <https://data.unicef.org/topic/water-and-sanitation/covid-19/> .

Aguas Residuales

Composición:

Agentes físicos: olor, color, sólidos y temperatura,

Agentes químicos: indican al material orgánico, pesticidas, **contaminantes**, aceites, metales pesados, nitrógeno, oxígeno, pH, entre otros.

Compuestos biológicos: aquellos provenientes de animales y plantas, estas han sido clasificadas como domésticas, urbanas e industriales.

Las aguas residuales se constituyen a partir de la mezcla de aguas que han sido sometidas a un cambio debido a las intervenciones humanas durante su uso y que antes de ser reutilizadas o vertidas a fuentes de aguas naturales deben recibir un tratamiento previo para mitigar el impacto de contaminación y evitar posibles brotes epidémicos.

Las aguas residuales domésticas se originan en viviendas por el uso humano en oficios varios

Aguas residuales industriales son aquellas que son vertidas por industrias, como su nombre lo indica, por actividad comercial e industrial

aguas residuales urbanas son aquellas Compuestas, básicamente, por aguas de origen doméstico y pluvial.



Supervivencia del SARS-CoV-2 en aguas residuales y otras matrices de agua ambiental

Infectividad 2 días, 20–24 °C .

Virus envueltos viables períodos cortos comparado con no envueltos.

Son limitados, riesgos asociados al cultivo y manipulación de virus vivos y el requisito mínimo de un laboratorio de nivel 3 de bioseguridad

SARS-CoV-2 infeccioso y sustitutos T90* a 20 °C en agua de río, de mar y residuales son: 2,3 ; 1,1 y 1, 7 días respectivamente.

T 90* a 4 °C de 7,7 y 5,5 días en agua de río y residuales, respectivamente.

Más tiempo viable en muestras filtradas, T 90* de 1,9 y 1,2 días en muestras de agua de río y residuales, mientras que la T90* en agua de río y residuales filtradas es de 3,3 y 1,5 días.

Poblaciones microbianas autóctonas, bacterias depredadoras, protozoos y metazoos, pueden competir contra el SARS-CoV-2 por la supervivencia.

La adsorción del virus en materia orgánica, sólidos presentes proporciona protección física contra fotodegradación, depredación y desinfección.

*Inactivación del 90% del SARS-CoV-2 (T_{90})



LA EPIDEMIOLOGÍA BASADA EN AGUAS RESIDUALES

Daughton et al., 2020. Impulsó la implementación de una estrategia de vigilancia de aguas residuales que pudiera determinar la incidencia de COVID-19

Australia, República Checa, Japón, India, Italia, Países Bajos, Estados Unidos, España y China

Útil medir la prevalencia
 Sarampión, Enterovirus,
 Hepatitis A y E, Norovirus
 SARS-CoV-2

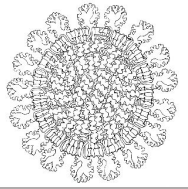
Usa controles virales
 Virus de la Hepatitis murino MHV
 Virus de gastroenteritis
 transmisible HCoV-229E,
 Alfacoronavirus y BCoV

Proporciona información
 sobre los brotes dentro de
 las poblaciones y la eficacia
 de las medidas adoptadas
 por los funcionarios de salud
 pública.

Detección temprana de
 brotes y la recopilación de
 datos sobre individuos
 asintomáticos

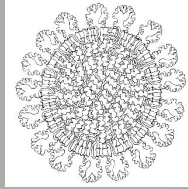


EPIDEMIOLOGÍA DE LAS AGUAS RESIDUALES –WBE.



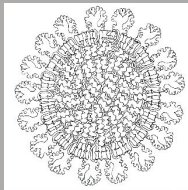
Es útil para la alerta temprana de un brote de enfermedad y puede estimar la prevalencia de la población sin realizar pruebas individuales, incluso en una gran cantidad de pacientes sin síntomas.

Bai et al., 2020;Wu et al., 2020).



La concentración de ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales puede proporcionar una alerta anticipada unos días antes de la detección de COVID-19 a través de la vigilancia clínica.

Solo et al., 2023;Toledo et al., 2022.



Las concentraciones de ARN del SARS-CoV-2 en aguas residuales se correlacionaron con el número de casos clínicos confirmados, lo que explicó la aplicabilidad de un enfoque de epidemiología basada en aguas residuales (WBE) para monitorear las infecciones en las comunidades.

Kagami et al., 2023;Kumar et al., 2023).





ARN del SARS-CoV-2: Heces, Orina, Comunidades infectadas

La presencia de SARS-CoV-2 infeccioso

Heces y orina plantea la posibilidad de transmisión fecal-oral ?

ARN viral de hasta 10^8 copias por gramo de heces

ARN-CoV-2 (500–18.700 copias/L) en un tanque séptico del hospital incluso después de la desinfección con hipoclorito de sodio.

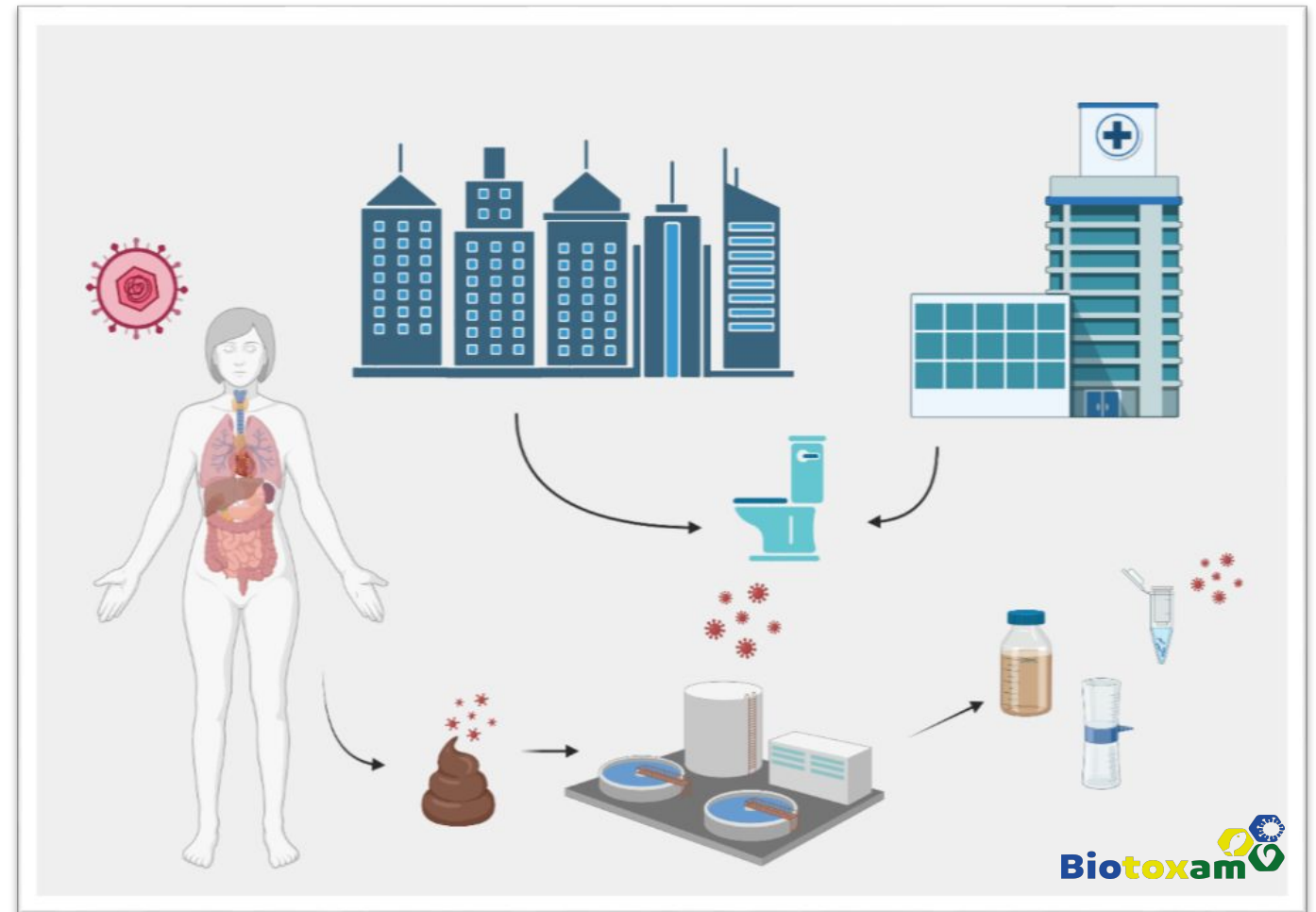




Ensayos de identificación y cuantificación de ARN- SARS-CoV-2 en las aguas residuales.

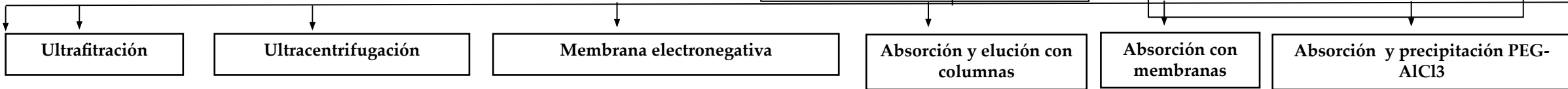
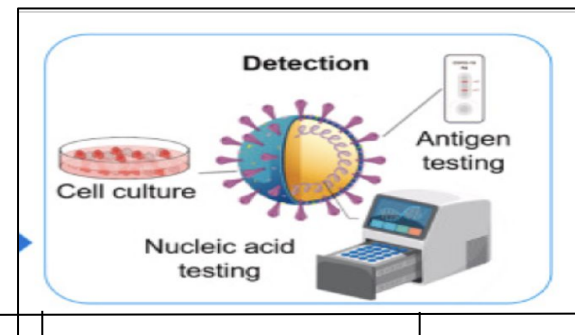
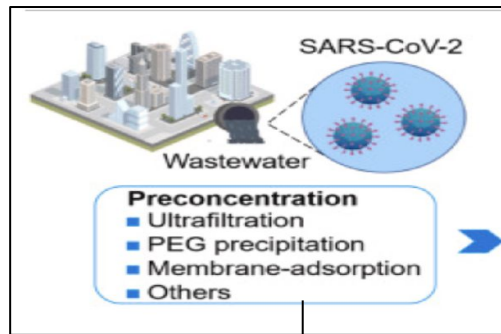
Correlaciones espaciales y temporales entre el ARN- SARS-CoV-2 medido en aguas residuales y la carga de morbilidad clínica.

Equipos transdisciplinarios (ingeniería, ciencias del agua, microbiología médica y ambiental, enfermedades infecciosas y salud pública, y bioinformática).



La vigilancia basada en aguas residuales (“WBS”, por sus siglas en inglés) ha experimentado un avance espectacular en el contexto de la pandemia de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19).





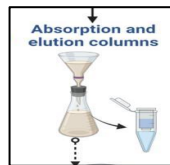
Se basa en la exclusión de partículas en función del tamaño. Mantiene una carga viral estable. La recuperación es de 18%. Usa ~5000x g a 4 ° C o filtrarlas utilizando una membrana de filtro de 0,22/0,45 µm para eliminar partículas y sólidos suspendidos.



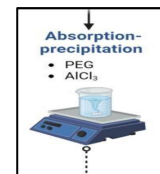
Método de fácil acceso por sus bajos costos. Permite separación de sólidos y sobrenadante de forma eficaz. (Ahmed et al., 2020).

Membrana electronegativa

Método rápido, empleando un sistema al vacío. Volumen de muestra de hasta 1 litro (Ahmed et al., 2020).

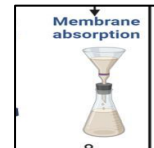


Membrana electronegativa de tamaño de poro de 0,45 µm, MgCl₂ utiliza filtros microporosos con carga positiva o negativa, que adsorben los virus en los filtros mediante interacciones electrostáticas e hidrofóbicas.



Absorción y precipitación PEG-AICl₃

Permite utilizar volúmenes grandes de concentración. Membrana electronegativa de tamaño de poro de 0,45 µm, AlCl₃ Se utiliza para concentrar el material genético del SARS-CoV-2 de las aguas residuales. Kumar y otros, 2020 La Rosa et al., 2020 Wu y otros, 2020b Zhang y otros, 2022



RECOLECCIÓN DE MUESTRAS, Y CONTROL DE RECUPERACIÓN



RECOLECCIÓN DE MUESTRAS, Y CONTROL DE RECUPERACIÓN

Extracción de ARN

Cuantificación de ARN- PCR

Análisis de dPCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa Digital)

MATERIAL GENETICO

PCR cuantitativa (qPCR), PCR cuantitativa con transcripción inversa (RT-qPCR)

Varios laboratorios han desarrollado métodos RT-LAMP para detectar la secuencia de ácido nucleico del SARS-CoV-2

Pakistán, Alemania, España y China.

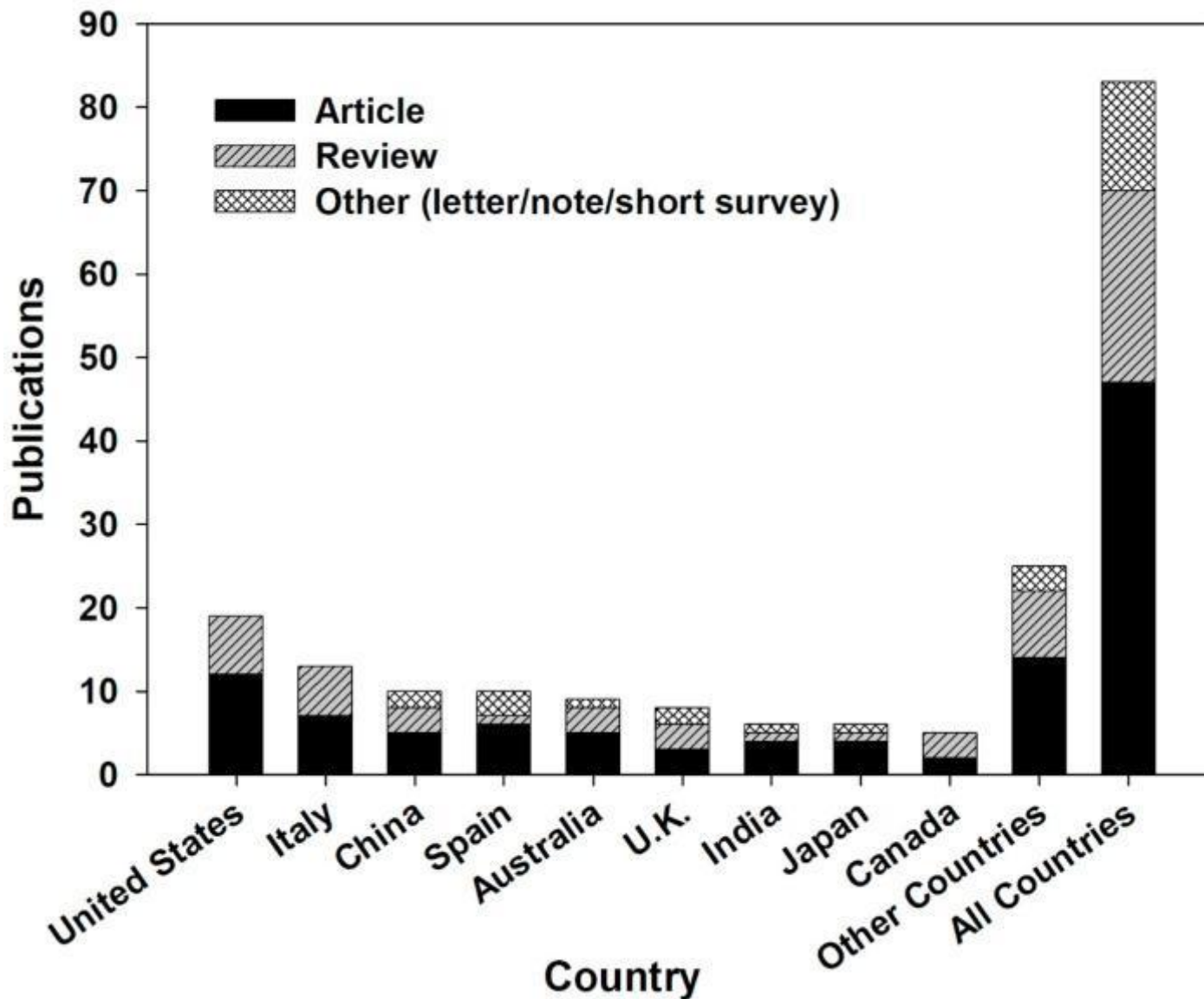
Tecnología NGS (secuenciación de próxima generación)

El sistema CRISPR/Cas

VARIANTES CIRCULANTES EN LAS AGUAS RESIDUALES

LINAJES Y VARIANTES EMERGENTES EN DIFERENTES REGIONES.

EDICIÓN DE GENES, SE UTILIZA EN BIOIMAGENOLÓGÍA, DIAGNÓSTICO Y TERAPIAS DEBIDO A SU ALTA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE OBJETIVO.





Infeción persistente:

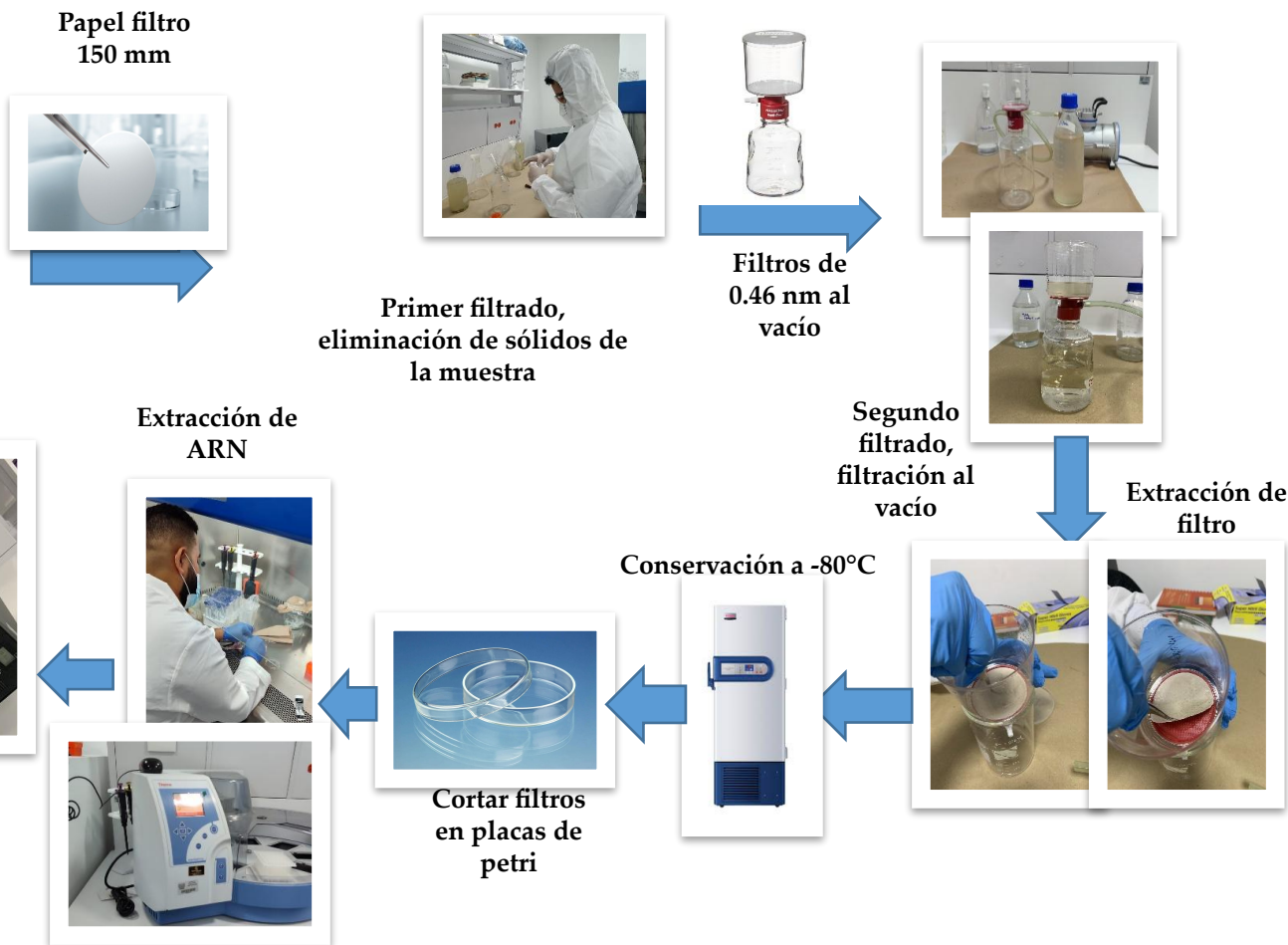
Es la infección por SARS-CoV-2 de duración inusualmente prolongada, que implica la replicación continua del virus en al menos un lugar anatómico, que no tiene por qué incluir el tracto respiratorio superior.

Hipótesis: Las infecciones persistentes por SARS-CoV-2 implican la formación de reservorios virales en tejidos ajenos al tracto respiratorio superior, un tema que requiere más investigación.



FLUJO DE TRABAJO

Muestras de aguas residuales conservadas en refrigeración 2 a 8° C



CONCLUSIONES

Priorización de intervenciones y búsqueda de patógenos en sistemas de aguas.

Eficacia de los tratamientos de aguas residuales en hospitales, casas civiles y la reducción en el futuro de la persistencia del virus en aguas efluentes de estos contextos.

Intervenciones con procesos de descontaminación de los ductos de agua de alcantarillado y demás sistemas donde circule el agua residual, son cruciales para evitar contagios y reducir los riesgos de transmisión



CONCLUSIONES

Priorización de intervenciones y búsqueda de patógenos en sistemas de aguas.

Eficacia de los tratamientos de aguas residuales en hospitales, casas civiles y la reducción en el futuro de la persistencia del virus en aguas efluentes de estos contextos.

Intervenciones con procesos de descontaminación de los ductos de agua de alcantarillado y demás sistemas donde circule el agua residual, son cruciales para evitar contagios y reducir los riesgos de transmisión.





Universidad
de Cartagena
Fundada en 1827



**VI CONGRESO LATINOAMERICANO
DE BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**II CONGRESO INTERNACIONAL DEL
COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA**

¡El riesgo es que te quieras quedar!

Cartagena, Colombia 3 al 6 OCTUBRE 2024

barroyos@unicartagena.edu.co



www.congresocolabiocli.com

