



**Experiencias en la  
monitorización de  
SARS-CoV2  
en aguas residuales  
urbanas**



**aeopas**

Asociación Española de Operadores  
Públicos de Abastecimiento y Saneamiento



# Experiencias en la monitorización de **SARS-CoV2** en aguas residuales urbanas

**Prácticas y resultados de operadores  
públicos de agua durante la pandemia**



Asociación Española de Operadores  
Públicos de Abastecimiento y Saneamiento

## **EDITA**

Asociación Española de Operadores Públicos de  
Abastecimiento y Saneamiento

## **DIRECCIÓN Y COORDINACIÓN**

Luis Babiano Amilibia

## **TEXTOS**

Hugo Morán Fernández.

Luis Babiano Amilibia.

Margarita Poza Domínguez.

Teodoro Estrela Monreal.

Marc Moliner Rafa.

Andrea López.

Jairo Gómez.

Roberto Ferrández.

Fernando Mendoza.

Pablo Rasero del Real.

María José Chesa Marro.

Pedro Tomás Martín de la Vega Manzano.

María Isabel Fernández Fernández.

María Fátima Fernández Fernández.

Alejandro Oreja Piris.

Juan Pedro García Garrido.

Armando Quazzo.

## **ENTIDADES:**

Aquavall.

Consorcio de Aguas de Asturias.

Empresa Municipal de Aguas de Gijón (EMA).

## **DISEÑO Y MAQUETACIÓN**

Antonio Ramírez Ramírez

## **Ficha catalográfica:**

*Experiencias de monitorización del SARS-CoV2 en aguas residuales urbanas. Prácticas y resultados de operadores públicos durante la pandemia.* Asociación Española de Operadores Públicos de Abastecimiento y Saneamiento. Sevilla, 2021.

**ISBN:** 978-84-09-32079-0

**Depósito legal:** SE 1275-2021

© **de la edición:** Asociación Española de Operadores Públicos de Abastecimiento y Saneamiento

© **de los textos:** los autores

© **de las imágenes:** los propietarios.

# Índice

<b>Saludo de la presidenta</b>	<b>9</b>
Raquel del Puerto Carrasco. Asociación Española de Operadores Públicos de Abastecimiento y Saneamiento.	
<b>Presentación</b>	<b>13</b>
Hugo Morán Fernández. Secretario de Estado de Medio Ambiente. Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico. Gobierno de España	
<b>Siguiendo la pista del SARS-COV-2 en las aguas residuales</b>	<b>21</b>
Luis Babiano. Gerente de AEOPAS y coordinador de publicación.	
Contexto inicial de pandemia	22
La base científica	23
La construcción de redes de vigilancia	25
El papel de nuestros operadores	26
Conclusiones: ¿Es necesario invertir en epidemiología en aguas residuales?	28
<b>Covibens: epidemiología basada en aguas residuales en A Coruña</b>	<b>31</b>
Margarita Poza Domínguez. Microbióloga del Instituto de Investigación Biomédica (INIBIC) y Profesora Asociada de Microbiología de la Universidad de A Coruña (UDC). Gerente de AEOPAS	
Introducción	32
Equipo Covibens	36
Objetivos de Covibens	37
Metodología	38
Resultados	40
Conclusiones	43
Bibliografía	44
<b>Desarrollo del proyecto VATAR-COVID-19. Trabajos realizados y resultados</b>	<b>47</b>
Teodoro Estrela Monreal. Director General del Agua. Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico. Gobierno de España.	
<b>Red de vigilancia del SARS-COV-2 en aguas residuales de Catalunya</b>	<b>55</b>
Marc Moiner Rafa. Agència Catalana de l'Aigua.	

# Índice

<b>Prevalencia y concentración de material genérico de SARS-COV-2 en aguas residuales de la Comunidad Foral de Navarra</b>	<b>63</b>
Andrea López, Jairo Gómez, Roberto Ferrández, Fernando Mendoza. Navarra de Infraestructuras Locales S.A. (NILSA).	
Introducción y objetivos	64
Materiales y métodos	65
Resultados	67
Conclusiones y actuaciones futuras	70
Agradecimientos	70
Bibliografía	71
<b>Proyecto COV-RED</b>	<b>73</b>
Consortio de Aguas de Asturias. Empresa Municipal de Aguas de Gijón (EMA). Universidad de Oviedo. Magandea Engineers.	
Sistema robótico de alerta temprana SARS-COV-2	74
Objetivo	75
Equipo multidisciplinar	76
Método analítico	77
Proyecto de tecnología humanitaria	78
Objetivos de desarrollo sostenible	79
Equipo de personas	80
<b>Sistema de alerta temprana para la detección de material genérico de SARS-COV-2 en la red de saneamiento de EMASESA</b>	<b>83</b>
Pablo Rasero del Real. Jefe de Control de Calidad de Vertidos. EMASESA Metropolitana	
Antecedentes	84
Diseño del sistema de alerta temprana de EMASESA	86
Metodología para la selección de los puntos de muestreo	87
Muestreo y análisis	91
Protocolo de actuación	93
Resultados	94
Proyecto en curso	96
Conclusiones	96
Fuentes documentales y bibliográficas	99

# Índice

<b>Monitorización de virus y COVID-19 en aguas residuales</b>	<b>101</b>
Aquavall en colaboración con: Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León e Instituto de Procesos Sostenibles de la Universidad de Valladolid.	
Resumen ejecutivo	102
Presentación	102
Introducción	103
Virus y aguas residuales	104
Cuantificación del virus SARS COV-2	109
Iniciativas de monitorización en aguas residuales	113
Condicionante de los resultados	115
Interpretación de resultados	116
Futuro	118
Bibliografía	120
<b>Avances y experiencias de la ciudad de Barcelona</b>	<b>123</b>
María José Chesa Marro. Jefa del Servicio Ambiental y Relaciones Externas. Ciclo del Agua. Ayuntamiento de Barcelona.	
Proyectos europeos	125
<b>Experiencias sobre seguimientos de la evolución de la enfermedad COVID-19 mediante la cuantificación de ARN de SARS-COV-2 en aguas residuales de pequeños municipios. Relación con la incidencia sanitaria.</b>	<b>131</b>
Pedro Tomás Martín de la Vega Manzano, María Isabel Fernández Fernández, María Fátima Fernández Fernández, Alejandro Oreja Piris y Juan Pedro García Garrido. Consorcio para la Gestión de los Servicios Medioambientales de la Diputación de Badajoz, PROMEDIO.	
Introducción	132
Materiales y métodos	134
Discusión	139
Conclusiones	142
Bibliografía	142
<b>Monitoreo de aguas residuales del SARS-COV-2</b>	<b>145</b>
Armando Quazzo. Società Metropolitana Acque Torino S.p.A.	



# SALUDO DE LA PRESIDENTA

Raquel del Puerto Carrasco  
Presidenta de la Asociación Española de Operadores  
Públicos de Abastecimiento y Saneamiento

El agua pública es fundamental para nuestra salud y lo es aún más en contextos de crisis sanitarias. La actual pandemia ha puesto en evidencia la necesidad de **gestionar el agua como un derecho**.

En muchos municipios, detrás del agua de grifo que bebemos, con la que nos lavemos las manos, ponemos una lavadora o limpiemos nuestra vivienda, están los operadores públicos que mantienen toda una red de infraestructuras imprescindibles para que el agua de grifo continúe llegando a nuestros hogares, con la certeza de que es sana y de que podemos estar seguros de su calidad, que es además devuelta a la naturaleza en condiciones de cualidad suficiente como para proteger nuestro medio ambiente.

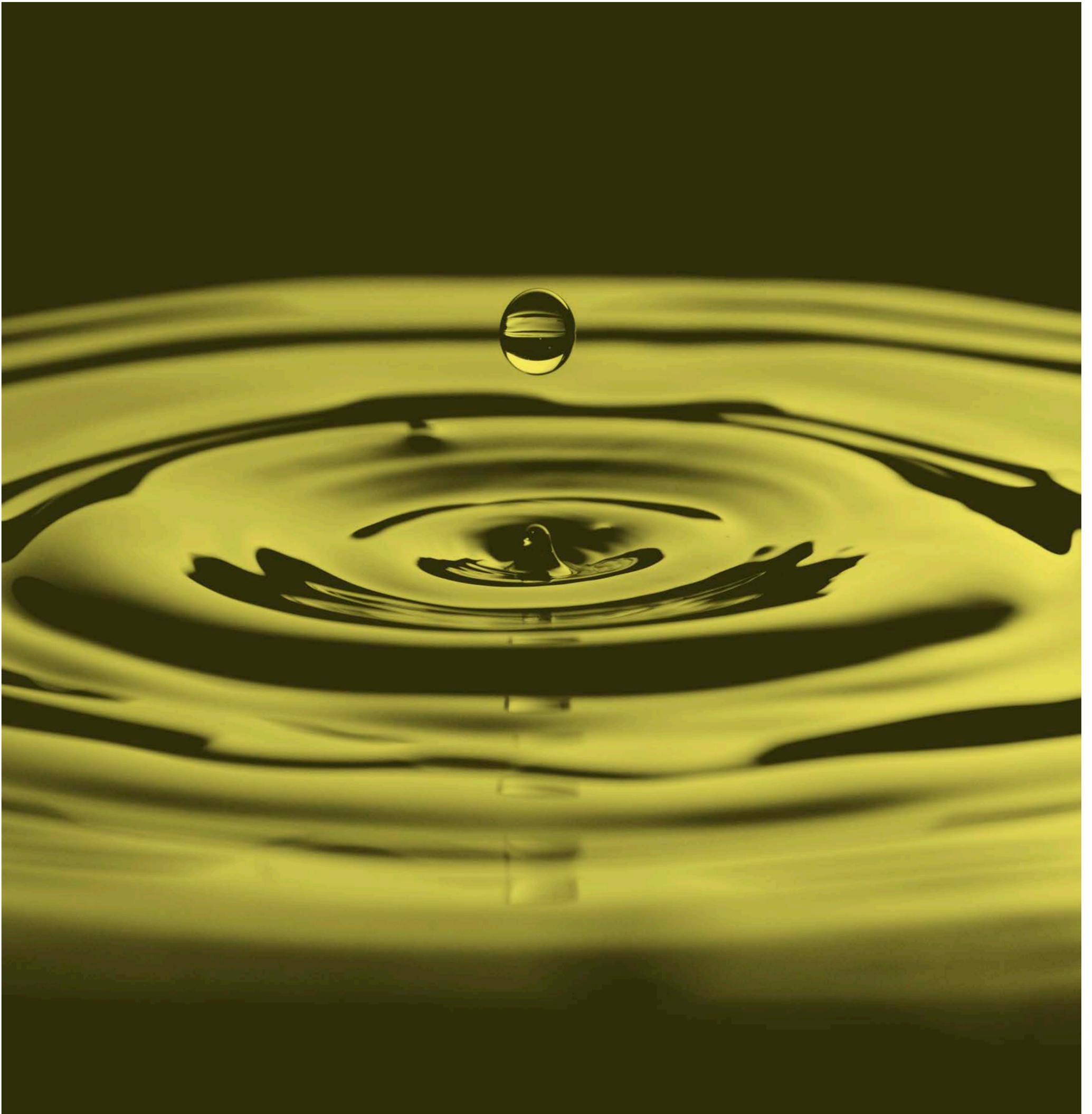
Para garantizar que los servicios de agua continuaran así, los operadores públicos han tomado medidas preventivas que han evitado contagios y han garantizado al 100% un suministro de agua potable de calidad a toda la población.

La emergencia sanitaria del coronavirus ha afectado a prácticamente todos los ámbitos de la vida cotidiana. Esta crisis ha evidenciado más que nunca la importancia de los valores colectivos de nuestros operadores públicos de agua, que son la solidaridad, la cooperación y la prevención.

En el conjunto de la sociedad existe un miedo generalizado por la aparición de nuevos brotes de covid. El miedo ha dejado de ser una emoción marginal, excepcional o reservada a la patología clínica ya que está vigente de una manera globalizadora. Por ello, es importante contar con herramientas de detección precoz de población portadora que prevenga nuevas situaciones con altos niveles de contagio.

Distintas líneas de investigación en Europa y España han constatado que en las aguas residuales se pueden detectar aumentos de los niveles de circulación del Covid-19 o partes de sus fragmentos genéticos, tanto en los casos en que haya un foco de población contagiada, independientemente de si el foco de la población sólo presenta los primeros síntomas o incluso si son asintomáticos, por lo que el análisis de las aguas residuales se convierte en una herramienta de anticipación y gran utilidad ante nuevos rebrotes para los servicios médicos y la administración.

Ante estas evidencias científicas, la irrupción de la pandemia por la COVID-19 y la preocupación por la crisis sanitaria, desde AEOPAS decidimos realizar junto al portal [aguasresiduales.info](http://aguasresiduales.info), dos webinar sobre los Avances y experiencias en la monitorización de SARS. COV-2 en las aguas residuales urbana. Fruto de este trabajo es la publicación que presentamos y que creo, sinceramente, se trata de un testimonio para conocer cómo los pueblos y ciudades estamos gestionado la pandemia y cómo todos estos trabajos son una evidencia sobre la necesidad de unión para afrontar futuros riesgos globales.





# PRESENTACIÓN

Hugo Morán Fernández  
Secretario de Estado de Medio Ambiente  
Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico  
Gobierno de España

Agradecemos a la Asociación Española de Operadores Públicos de Abastecimiento y Saneamiento (AEOPAS) su invitación para hablar hoy aquí de un tema tan relevante y de tanta actualidad como la COVID-19 y los sistemas de saneamiento y depuración. Un asunto en el que el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico ha trabajado, en el marco de sus competencias, desde el inicio de la pandemia.

En materia de agua, hemos actuado asegurando la garantía de abastecimiento, depuración y saneamiento.

Las actividades de **abastecimiento de agua y tratamiento** se han considerado esenciales en la normativa aprobada durante el periodo del Estado de Alarma, que acaba de concluir. Los operadores públicos del sector abastecimiento, **depuración**, conducción, potabilización y **saneamiento** de agua han sido contempladas en las disposiciones de distinto rango normativo aprobadas para la situación generada por la COVID-19, que han sido las siguientes.

Con el fin de garantizar el abastecimiento, depuración y suministro de agua para todas sus finalidades, el Ministerio adoptó las siguientes medidas:

1. Publicación de una **Orden de servicios esenciales en materia de agua** (Orden SND/274/2020, de 22 de marzo) por la que se adoptaron medidas en relación con los servicios de abastecimiento de agua de consumo humano y de saneamiento de aguas residuales. Estas medidas han posibilitado que las entidades que llevan a cabo los procesos de tratamiento del agua necesarios para los servicios señalados hayan tenido la consideración de operadores de servicios esenciales y, al tiempo, hayan dispuesto de los productos, sustancias y materiales necesarios para garantizar que puedan llevar a efecto su labor con las máximas garantías de éxito, en cumplimiento de la normativa sanitaria aplicable.

2. **Incorporación de la garantía de suministro de agua en el Real Decreto Ley 11/2020** mientras estuviese en vigor el estado de alarma. Se consignó que no podría suspenderse el suministro de agua a los consumidores personas físicas en su vivienda habitual, por motivos distintos a la seguridad del suministro.

3. **Reuniones con el sector.** Con objeto de tratar cuestiones relacionadas con estas medidas, se han mantenido reuniones periódicas con las asociaciones principales a nivel nacional de los operadores del ciclo urbano del agua: AEAS (Asociación Española de Abastecimiento de Agua y Saneamiento), AGA (Asociación Española de Empresas Gestoras de los Servicios de Agua Urbana) y, como bien sabéis, con AEOPAS (Asociación Española de Operadores Públicos de Abastecimiento y Saneamiento).

4. **Medidas a nivel de Confederaciones Hidrográficas y Sociedades Estatales del Agua:** seguimiento de los servicios esenciales del agua para asegurar el abastecimiento, la información hidrológica y la vigilancia del Dominio Público Hidráulico en las Demarcaciones Hidrográficas.

Durante el Estado de Alarma, las 9 Confederaciones Hidrográficas, la Mancomunidad de los Canales del Taibilla y las dos Sociedades Estatales del Agua han dictado resoluciones y planes de contingencia para asegurar los servicios esenciales.



La Dirección General del Agua ha realizado un seguimiento de estos servicios necesarios para asegurar el abastecimiento, la información hidrológica y la vigilancia del Dominio Público Hidráulico.

Además -e inicio aquí la segunda parte de mi intervención-, el Ministerio ha trabajado y trabaja en el seguimiento ambiental del SARS-CoV-2 en las aguas residuales como indicador de alerta temprana.

Como bien sabéis, ante la situación generada por la pandemia de COVID-19 y su impacto en la salud pública, han surgido varios trabajos, tanto a nivel nacional como internacional, que relacionan la presencia de material genético del virus SARSCoV-2 (causante de la COVID-19) en las aguas residuales con los casos contrastados de infección por el coronavirus.

Estudios en esta materia concluyen que la detección de dicho material genético puede ser una herramienta de detección temprana de la propagación de la enfermedad, de modo que se podría utilizar como indicador epidemiológico de gran utilidad para futuras incidencias de la enfermedad.

No obstante, y esto es importante destacarlo, no hay evidencias de que el virus mantenga su capacidad de infección en aguas ya tratadas. Es decir, el patógeno no sobrevive a los tratamientos que se efectúan en las depuradoras, ni se transmite por sistemas de alcantarillado, con o sin tratamiento.

Por ello, el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico está trabajando junto con el Ministerio de Sanidad, y con el apoyo del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y las Comunidades Autónomas, en la puesta en marcha de una red de alerta de rebrote de COVID-19 a través de la medida y el análisis de las aguas residuales.





El Ministerio ha destinado inicialmente 2 millones de euros a este fin, aunque se revisarán en función de la evolución de la pandemia. Además, ha encargado a Tragsa la realización de análisis para el control de la presencia de contaminación microbiológica en las aguas continentales, en particular en las residuales urbanas y en zonas de baño, con el fin de identificar la presencia de ARN del virus SARS-CoV-2.

La campaña de detección del coronavirus cuenta con datos de las estaciones depuradoras de aguas residuales de todas las demarcaciones hidrográficas españolas; da prioridad a aquellas que contengan efluentes procedentes de hospitales, zonas turísticas o aeropuertos, y analizará el uso del agua regenerada en aquellos municipios con tratamientos de depuración insuficientes o en tramos de ríos, lagos o embalses susceptibles de usarse para el baño. Se han seleccionado zonas de aguas de baño con un elevado potencial de usuarios para estudiar los posibles efectos del virus en estas aguas.

Este estudio es complementario al control en depuradoras, para reforzar una adecuada evaluación del riesgo existente.

Para poner en marcha este proyecto, se ha formado un grupo técnico entre el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, el Ministerio de Sanidad y las Comunidades Autónomas, que será el que coordine todas las actuaciones y que irá seleccionando las zonas de muestreo y las frecuencias en función de la evolución de la pandemia.

En estos momentos, se está ultimando la red de puntos de medida en una serie de ciudades seleccionadas por las autoridades autonómicas. Este mismo lunes, se ha realizado ya el primer muestreo en una zona de baño, y esta semana se terminará de perfilar la lista definitiva de los puntos de muestreo en depuradoras.

Esto supone, además, el impulso a una red de trabajo entre técnicos de las administraciones y científicos y operadores de agua, y servirá para detectar con antelación posibles rebrotes de COVID-19.

Una detección temprana que, como he señalado antes, tiene una gran importancia, especialmente para seguir avanzando en la nueva normalidad.

Para ello, además de lo citado, el Ministerio de Sanidad, a través de la Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación, y el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, a través de la Dirección General del Agua, están llevando a cabo las siguientes actividades:

1. Creación de una plataforma para compartir información entre todos los agentes implicados en la gestión de las aguas residuales y rebrotes de COVID-19.
2. Establecimiento de red de contactos entre los laboratorios y administradores del agua y sanitarias para canalizar y compartir la información y conocimiento generado.

En la realización de estos trabajos, participan técnicos de ambos Ministerios, del CSIC, el Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas (CEDEX) y varias universidades, que en los próximos meses darán soporte a las autoridades sanitarias, a los gestores del agua de las Comunidades Autónomas y a los operadores de abastecimiento y saneamiento.

Concluyo ya, pero no quiero finalizar mi intervención sin hacer una breve referencia al reto que tenemos por delante.

Aunque no podemos dejar de lado la componente sanitaria de esta crisis -de ahí que hoy estemos hablando de los sistemas de alerta temprana de detección-, estamos trabajando ya en la recuperación de nuestras economías, que debe ser una recuperación sostenible.

Y en este contexto, la gestión del agua es prioritaria. Porque el agua es un elemento singular, esencial para el bienestar de las persona y para las actividades económicas, y su sensibilidad a los efectos del cambio climático nos obliga a planificar y gestionar este recurso natural con mucho más cuidado, teniendo en cuenta escenarios futuros.

Además de todos los análisis que llevaremos a cabo como consecuencia del estallido de la pandemia ocasionada por el coronavirus, hemos de prestar atención especial a la calidad del agua y a la lucha contra la contaminación en todas sus formas.

Nos enfrentamos a un momento inusitado en nuestra historia reciente, un momento de enorme exigencia, personal y colectiva, con grandes retos y grandes incertidumbres.

Pero es también un momento de oportunidad para transitar un camino diferente que ha de llevarnos hacia ese nuevo futuro. Un futuro que, ahora mismo, está en nuestras manos.

Y, en esta tarea, esperamos seguir contando con vuestra colaboración, como así ha sido durante estos duros meses marcados por la pandemia. Una colaboración y un esfuerzo por el que quiero daros las gracias.

Muchas gracias.



# SIGUIENDO LA PISTA DEL SARS-COV-2 EN LAS AGUAS RESIDUALES

Luis Babiano  
Gerente de AEOPAS

Desde AEOPAS sostenemos que una parte de los futuros fondos “Next Generation” tienen que contribuir a la creación o a la consolidación de esta metodología que contribuye a la gobernabilidad del agua, ya que la España posterior a la COVID-19 debe ser más transparente, más solidaria, más ecológica, más resiliente y mejor adaptada a los retos actuales y futuros.

# Contexto inicial de pandemia

En muchos municipios, detrás del agua de grifo que permite beber, que nos lavemos las manos, pongamos una lavadora o limpiemos nuestra vivienda, están los operadores públicos del agua, que mantienen en toda una red de infraestructuras imprescindibles para que el agua de grifo continúe llegando a nuestros hogares pase lo que pase.

La emergencia sanitaria del coronavirus está afectando a prácticamente todos los ámbitos de la vida cotidiana. Y en período de crisis, los valores colectivos de nuestros operadores públicos de agua, como son la **solidaridad, la cohesión y la cooperación**, toman toda su importancia y marcan la diferencia.

La crisis está provocando un hundimiento económico sin precedentes, lo que exige respuestas inéditas. Por eso, la mayoría de los operadores públicos decidimos, mucho antes que el gobierno central lo estableciera, suspender, con carácter inmediato, cualquier procedimiento de corte del suministro a nuestros usuarios. Operadores públicos como EMASESA en Sevilla y su área metropolitana, Palma (Emaya) Córdoba (Emacsa), Cádiz (Aguas de Cádiz), Valladolid (Aquavall) o Terrassa (Taigua), entre otros, han asignado cuantiosos fondos para paliar las dificultades económicas de familias, autónomos y pymes. Estos fondos han sido vitales para frenar la depresión económica y social de nuestras ciudades. En la publicación “COVID-19 Manual Urgente para Operadores de Gestión Urbana de Agua”, editado junto

al **IWA Publishing** y de libre acceso en el enlace <https://doi.org/10.2166/9781789061710>, exponemos partes de las directrices, guías y protocolos que los asociados de AEOPAS elaboramos en respuesta a la crisis del coronavirus COVID19 y que fueron vitales para reducir sus impactos.

La **Crisis Climática** tiene una relación directa con las pandemias y debemos sacar lecciones para que nuevas pandemias no nos cojan por sorpresa. Por ello, necesitamos urgentemente un plan de gestión del agua estatal, un plan que posibilite la inversión y que no deje a nadie atrás. Debemos aprender de las lecciones de esta pandemia para **adelantarnos a las futuras crisis del agua**.

La experiencia acumulada a lo largo este año ha dejado claro como las aguas residuales pueden servir como elemento de movilización y de alerta a las autoridades sanitarias para prevenir a la sociedad, mediante la detección temprana de focos de emisión de virus. Debido a la importancia del tema, desde AEOPAS y en colaboración con AGUASRESIDUALES.INFO organizamos dos WEBINAR. El primero lo organizamos en el mes junio 2021, bajo el título “*Gestión de la COVID-19 en los sistemas de saneamiento y depuración*”<sup>1</sup>, con el objetivo de conocer las distintas estrategias y medidas que habían implementado estos organismos para enfrentarse a este reto sin precedente.

<sup>1</sup> WEBINAR “Gestión de la COVID-19 en los sistemas de saneamiento y depuración” AEOPAS-AR.INFO <https://www.youtube.com/watch?v=5UlcSXhUIHM>

Posteriormente, en noviembre, organizamos un segundo encuentro. En esta ocasión, bajo el título de “Avances y experiencias en la monitorización de SARS-CoV-2 en las aguas residuales urbanas<sup>2</sup>”, dimos a conocer los primeros resultados, avances y experiencias que se han obtenido en los diferentes estudios llevados a cabo por los operadores públicos del agua.

Esta publicación es el resultado de estos dos foros virtuales de discusión, recoge las experiencias e iniciativas de varias administraciones y operadores públicos de agua y saneamiento con el objetivo de servir de base para hacer frente a rebrotes o nuevos escenarios e infecciones.

## La base científica

*“Las aguas residuales son un recurso valioso que el mundo necesita aprender cómo aprovechar. No solo se puede reutilizar para alimentar cultivos, el agua en nuestras alcantarillas puede actuar como un sistema de alerta temprana que podría avisarnos cuando las enfermedades empiecen a desplazarse en nuestras poblaciones urbanas. El agua dulce que nos queda en el mundo es un recurso increíblemente valioso, tenemos que acostumbrarnos a usarlo más de una vez y también debemos buscar pistas para futuras crisis de salud.”*

Susan Gardner, directora de la División de Ecosistemas del Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente, PNUMA.

Durante los primeros años del siglo XXI, el análisis de las aguas residuales se desarrolló para realizar el seguimiento de brotes epidémicos y el control de sustancias estupefacientes y medicamentos. Aunque el estudio se lleva haciendo desde hace años, su aplicación para monitorizar y seguir la evolución del coronavirus ha sido una novedad. Así, la publicación

<sup>2</sup> WEBINAR: “Avances y experiencias en la monitorización de SARS-CoV-2 en las aguas residuales urbanas”. <https://www.youtube.com/watch?v=TQyVRMfC7LA>



de los primeros análisis de las aguas fecales, unida a los primeros estudios que describían la presencia de material genético del SARS-CoV-2 en heces de pacientes Covid-19, con síntomas y sin ellos, dio un impulso en este tipo de trabajos de investigación, que empezaron a desarrollarse con mayor intensidad. Para ello era necesario desarrollar un método.

En nuestro país, el grupo del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA-CSIC) ya tenía una larga trayectoria en el análisis de otros virus en aguas residuales. Juntando toda su experiencia y las metodologías que ya tenían implementadas en el laboratorio, en colaboración con el Centro de Edafología y Biología aplicada del Segura (CEBAS-CSIC) y con la participación de empresas del sector, rápidamente, lograron implementar estos procedimientos y analizar semanalmente muestras de aguas residuales recogidas en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDARs) en diferentes puntos del territorio nacional<sup>3</sup>.

<sup>3</sup> Protocolo para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales. VIARAL-CSIC. <https://www.miteco.gob.es/>

Lo mismo sucedía con el modelo matemático para rastrear el virus a través de las aguas residuales diseñado por el equipo que dirige **Margarita Poza**, investigadora del Grupo de Microbiología del Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (**INIBIC**) y profesora de la **Universidad de A Coruña**. Esta metodología se implantó en el área metropolitana de A Coruña, en la que se analizaron las aguas residuales de la planta de tratamiento de Bens. La **empresa pública Edar Bens**, que se encarga del servicio de depuración de aguas residuales de los ayuntamientos de A Coruña y colindantes de Arteixo, Cambre, Culleredo

y Oleiros, presta servicio a los 400.000 habitantes aproximadamente del área metropolitana. Ante la actual crisis sanitaria, la empresa de gestión de aguas residuales encomendó a este equipo de investigadores del Instituto de Investigación Biomédica (INIBIC) y del Centro de Investigación TIC (CITIC) de la Universidad de A Coruña, un proyecto destinado a monitorizar la presencia de virus en la planta depuradora para llevar a cabo un estudio epidemiológico. En esta publicación se detalla el valor de dicha experiencia que goza de reconocimiento internacional.



# La construcción de redes de vigilancia

Ante la eficacia de los experimentos iniciados por la comunidad científica, el Ministerio para la Transición Ecológica encargó en junio del 2020 al grupo público Tragsa la realización urgente de un análisis para “*el control de la presencia de contaminación microbiológica en las aguas continentales, en particular en las residuales urbanas y en zonas de baño, con el fin de identificar la presencia del virus SARS-CoV-2*” en la mayoría de los territorios del estado. La campaña de detección del coronavirus cuenta con datos de las estaciones depuradoras de aguas residuales de todas las demarcaciones hidrográficas; da prioridad a aquellas que contengan efluentes procedentes de hospitales, zonas turísticas o aeropuertos, y analiza el uso del agua regenerada en aquellos municipios con tratamientos de depuración insuficientes o en tramos de ríos, lagos o embalses susceptibles de atraer bañistas. Se han seleccionado zonas de baño con un número potencial de usuarios elevado para estudiar los posibles efectos del virus en estas aguas. El director general de Agua, Teodoro Estrela, nos explica aquí la experiencia y las bases de lo que en el futuro debería ser la red de estaciones de vigilancia de futuras epidemias.

A esta experiencia estatal se le suman otras, iniciadas desde las comunidades autónomas, como el visor Sarsaigua impulsado por la Agencia de Salud Pública de Cataluña (**ASPCAT**) y la Agencia Catalana del Agua (**ACA**), que permite a cualquier ciudadano consultar el estado de circulación del virus en los distintos municipios catalanes. Sarsaigua, tal como veremos en la publicación, ofrece datos actualizados quincenal o semanalmente, y cuenta con el apoyo de la **Universitat de Barcelona**. En Catalunya el proyecto se inició en julio del 2020. A nivel de estrategia de muestreo, analizan 56 depuradoras, lo que supone un nivel cobertura de la población del 80%, que cubren gracias a las depuradoras seleccionadas, también

con vistas a un equilibrio territorial en el sentido de que cubren 41 de las 42 comarcas de Catalunya. Un esfuerzo que ha sido acompañado por el Ayuntamiento de Barcelona, a través de Barcelona Cicle de l'agua SA (BCASA), que fue invitada a participar en la mesa de trabajo para avanzar en el conocimiento, coordinar y buscar sinergias en las iniciativas que se están llevando a cabo en Cataluña para ampliar el conocimiento del coronavirus en el ciclo del agua. En esta mesa de trabajo están presentes al ACA, el Departamento de Salud, el ICRA, EURECAT, el Centro de Regulación Genómica, UB-Laboratorio de Virus, UB-Virus Entéricos, el AMB, CWP y ABEMGCIA-CETAQUA.

Al hilo de las investigaciones sobre la presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales, la **Comunidad Foral de Navarra**, a través de la sociedad pública **NILSA**, desde la que se gestiona la depuración de las aguas de Navarra, promovió, tal como se describe en esta publicación, un proyecto de investigación en colaboración con el Instituto de Salud Pública y Laboral y con las empresas públicas Nasertic y GANNIK y CSIC. En la propuesta inicial para el comienzo del estudio en Navarra se seleccionaron 5 EDAR, por ser las de mayor tamaño de la CFN o por haber tenido una elevada incidencia del virus al comienzo de la pandemia. Además, se decidió analizar por su elevado interés la muestra del colector del Hospital de Tudela, que tiene un colector diferenciado que recoge únicamente las aguas de esta instalación. En Navarra se detectó material genético del Covid en las aguas residuales, no se trata de virus activo, pero delataba la presencia del virus en una zona, y eso días antes de que fuera detectado por métodos clínicos, lo que convierte al agua residual en una fuente científicamente contrastada de alerta temprana sobre la presencia de Covid en poblaciones.

# El papel de nuestros operadores

**Emasesa**, la empresa que abastece a 1,2 millones de personas de la ciudad de Sevilla y su área metropolitana, lleva meses trabajando en un **novedoso sistema** para la detección del coronavirus en las aguas residuales que llegan a sus **EDAR**, esto es, a sus depuradoras de aguas residuales: El Copero, Norte, Tablada, Ranilla, Mairena-El Viso.

La red de saneamiento de Emasesa es muy larga, **casi 3.000 kilómetros de longitud**, que incluyen a la capital y las localidades de Alcalá de Guadaíra, Dos Hermanas, La Rinconada, Camas, San Juan de Aznalfarache, Coria del Río, La Puebla del Río, Mairena del Alcor, Alcalá del Río, El Garrobo y El Ronquillo. Para ello, desde EMASESA se ha ramificado y sectorizado toda la red de saneamiento y establecido una serie de puntos de control, desde los más generales a los más concretos. Los más generales son las entradas de las cinco depuradoras; luego hay once puntos nodales que van recogiendo las aguas residuales de todas las zonas; y otros 20 puntos en Sevilla y 15 en los pueblos que abastece Emasesa. En total son más de **50 puntos de control** que permiten localizar positivos incluso en personas asintomáticas, tal como explica Pablo Rasero del Real, de Emasesa.

Esta metodología permite localizar zonas en las que podrían producir nuevos brotes. Posibilita su temprana mitigación así como detectar casos asintomáticos, pues en las muestras se puede detectar el virus antes de que aparezcan los síntomas de contagio en las personas afectadas. Este proceso le ha servido al Ayuntamiento de Sevilla para proponer a la Junta de Andalucía un acuerdo de colaboración

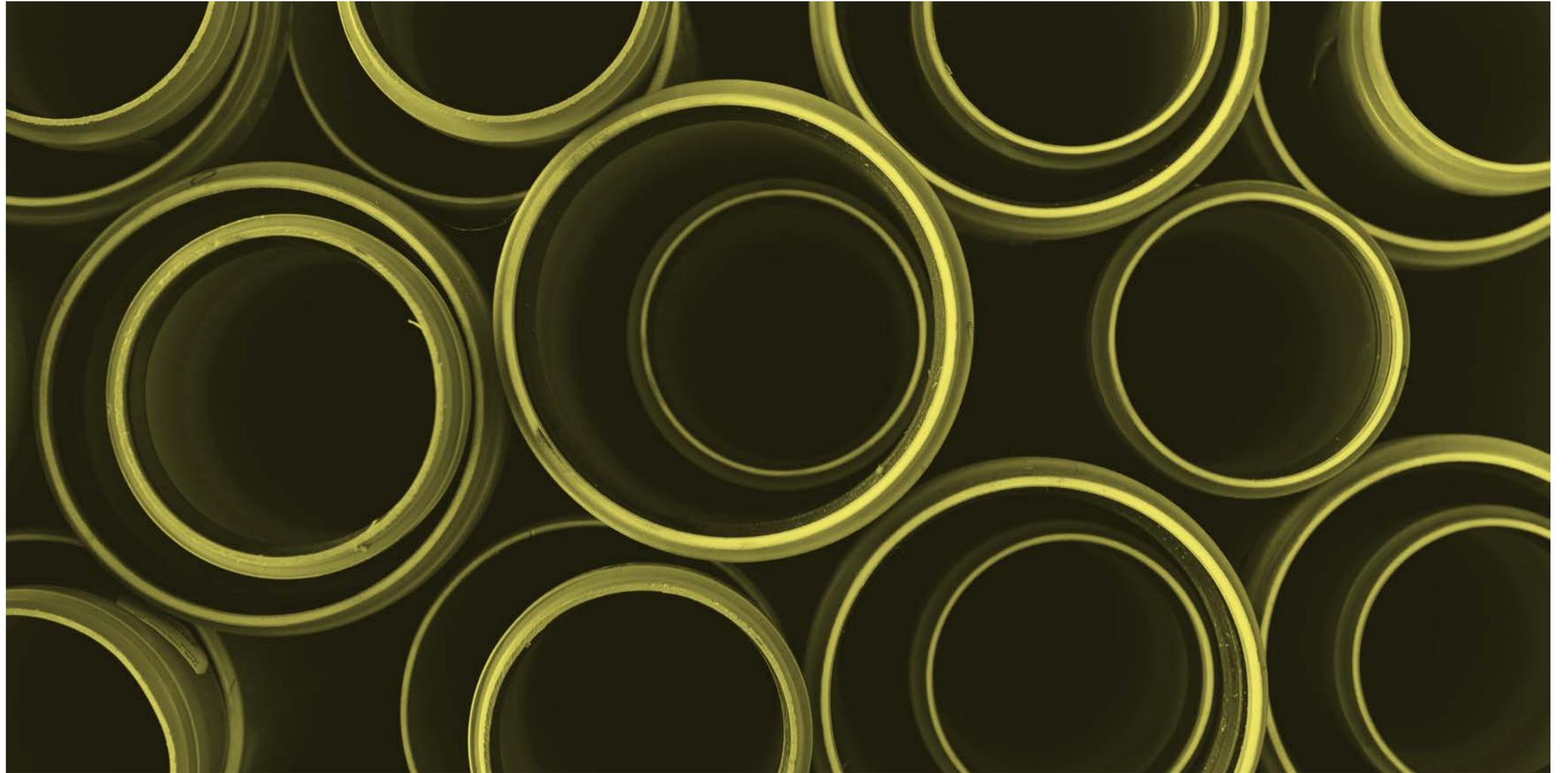
que prevé utilizar el análisis de las muestras de aguas residuales para detectar y adelantarse a un posible brote de coronavirus y, a partir de ahí, en coordinación con la Consejería de Salud, establecer las medidas sanitarias y de seguridad pertinentes, como la realización de cribados masivos de antígenos por distritos.

Sistemas similares ya se está aplicando en Valladolid a través de Aquavall, en Barcelona, a través de BCASA, y en el Principado de Asturias gracias a Cadasa y todos tienen como finalidad detectar con mayor rapidez los posibles rebrotes.

Si el virus se localiza en la red de saneamiento, Emasesa podrá acotar la zona de la que procede y así será más fácil localizar los casos y frenar la propagación del virus.

La detección no sólo es útil en depuradoras y colectores de saneamiento sino que también es válida en las zonas rurales. En este sentido, desde el Consorcio de Gestión Medioambiental de Badajoz (Promedio) se han realizado pruebas en Salvaleón (4.200 h.e.), La Albuera (4.000 h.e.), Puebla de la Calzada-Montijo (32.500 h.e), Villanueva del Fresno y Don Benito-Villanueva de la Serena (72.240 h.e).

El responsable del equipo del Laboratorio de I+D+i de Promedio, Pedro Tomás Martín de la Vega, constata la necesidad de ampliar el conocimiento científico del virus en aguas residuales en zonas rurales, de potenciar la colaboración entre operadores públicos y centros de investigación y de establecer mecanismos que permitan comparar muestreos y resultados.



# Conclusiones: ¿Es necesario invertir en epidemiología en aguas residuales?

Durante los primeros años del siglo XXI se avanzó en el desarrollo del análisis de aguas residuales para el seguimiento de brotes epidémicos y el control de sustancias estupefacientes y de medicamentos. De hecho, la epidemiología basada en aguas residuales (WBE, en inglés) tiene una historia de 20 años. En el último año, algunos países apostaron por retomar este método de vigilancia y conviene hacer una valoración de los resultados de esta experiencia.

Debido a la importancia del tema, desde AEOPAS, como ya hemos citado, organizamos dos seminarios virtuales. Las experiencias expuestas en estos seminarios nos demuestran los análisis de SARS-CoV-2 en depuradoras no sólo nos permiten anticiparnos a episodios de la pandemia, sino que los resultados pueden ayudar a seguir mejor la evolución de la pandemia en todas las escalas: desde centros puntuales (hospitales, residencias de mayores, colegios...) hasta municipios, regiones, países y a escala global. No obstante, el diseño un sistema de alerta temprana supone un importante esfuerzo, ya que es necesario sectorizar las redes de saneamiento haciéndolas coincidir con sectores de población que puedan ser monitorizados por las autoridades sanitarias. En este sentido los trabajos a realizar requieren un estudio pormenorizado de las redes en los que, por un lado, se compruebe la confluencia de los diferentes sectores a un colector común (sobre el que se realizará la toma de muestra), y por otro se seleccione el mejor punto que permita un fácil acceso para poder realizar la toma de muestra. Este modelo, que incorpora el diseño de **elementos concretos** para la toma de muestras,

tiene un coste económico que supera al de los diseños centrados únicamente en el muestreo de **elementos generales** como son la toma de muestras en Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales.

Además, para que el sistema sea útil como detección temprana de casos de COVID-19 es necesario mantener una alta vigilancia, que se puede concretar en una frecuencia de muestreos en cada punto de **al menos dos veces por semana**. Una vez que se produzca una propagación de la epidemia de COVID-19 en la población, la frecuencia entre muestreos puede ampliarse.

Aunque pueda resultar una obviedad, la agilidad en transmitir la información a las Autoridades Sanitarias es fundamental. Este **factor comunicacional** muchas veces ha resultado frágil y es una de las asignaturas que debemos estudiar y mejorar. No obstante, en conclusión, debemos ser firmes y señalar que **sí, vale la pena invertir en estos sistemas experimentales** ya que son una herramienta eficaz que complementa el seguimiento de los análisis clínicos. Recientemente, el **European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)** ha presentado un informe <sup>4</sup> que corrobora esta afirmación afirmando que:

1. La **información recopilada** hasta ahora muestra una correlación directa entre las cantidades de virus Covid19 encontradas en las aguas residuales y el número de personas infectadas en el área correspondiente.

<sup>4</sup> Tracking COVID-19 employing waste waters: a reliable indicator for supporting the prevention and management of the pandemic  
<https://ec.europa.eu/environment/water/water-urbanwaste/info/pdf/Waste%20Waters%20and%20Covid%2019%20MEMO.pdf>

2. La vigilancia de las aguas residuales se puede utilizar eficazmente como:

- **herramienta preventiva** o de alerta temprana: tan pronto como se detecte el virus, esto debe tomarse como una señal de una posible (re) emergencia de la pandemia;
- **herramienta de gestión**: la ausencia del virus en las aguas residuales podría indicar que la zona correspondiente puede considerarse de bajo riesgo;
- **red de seguridad**: si el virus se detecta en las aguas residuales, pero las pruebas de la población residente son negativas, se deben realizar investigaciones de las fuentes de infección no detectadas.

3. Los datos de la **vigilancia de las aguas residuales** deben utilizarse siempre como complemento de los datos epidemiológicos. Cuando no se dispone de tales datos epidemiológicos, la información sobre la presencia del virus en las aguas residuales puede ayudar a diseñar las estrategias de asistencia más eficaces en beneficio de los países y las categorías sociales menos favorecidas.

- El seguimiento de las aguas residuales es una **herramienta rentable** de prevención y resiliencia: asegurar una vigilancia eficaz de una planta de tratamiento requiere aprox. 25. 000 € / año.
- El seguimiento de la presencia de virus a intervalos regulares en las aguas residuales también puede ser útil para **anticipar posibles nuevas pandemias**.

En marzo de 2021, la Comisión adoptó una Recomendación sobre el seguimiento del COVID-19 y sus variantes en aguas residuales en la UE5. El objetivo es proporcionar nueva información independiente sobre la presencia del Covid-19 y su variante en

aguas residuales. Esta será una fuente importante de información adicional y complementaria para la toma de decisiones de salud pública. La Recomendación **pide a los Estados miembros que pongan en marcha sistemas de vigilancia de aguas residuales para octubre de 2021**, asegurando que los datos relevantes se han comunicados con prontitud a las autoridades sanitarias competentes. En la práctica, deberían estar disponibles y utilizarse métodos comunes de muestreo, de medición y de análisis de datos, respaldados por una plataforma de intercambio europea, a fin de garantizar que los datos recopilados sean fiables y comparables. La UE proporcionará **apoyo financiero a los Estados miembros** para establecer este sistema de seguimiento. La Comisión de la UE también pondrá en marcha una **plataforma informática de intercambio** para garantizar que se compartan las mejores prácticas, pero también los resultados del sistema de seguimiento. Esta Recomendación es parte de un conjunto de medidas COVID-19 adoptadas por la Comisión según lo anunciado en el plan de preparación europeo titulado “Incubadora HERA”.

Los operadores públicos apostamos por la consolidación de este modelo pero conviene señalar que este reto que no debe centrarse únicamente en las grandes ciudades tiene que venir acompañado por un programa de inversiones adecuados impulsado por las administraciones.

En este sentido, **desde AEOPAS sostenemos que una parte de los futuros fondos “Next Generation”** tienen que contribuir la creación o a la consolidación de esta metodología que contribuye a la gobernabilidad del agua, ya que la España posterior a la COVID-19 debe ser más transparente, más solidaria, más ecológica, más resiliente y mejor adaptada a los retos actuales y futuros.

5 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32021H0472&qid=1616408530133>



# COVIDBENS: EPIDEMIOLOGÍA BASADA EN AGUAS RESIDUALES EN A CORUÑA

Margartia Poza Domínguez  
Microbióloga del Instituto de Investigación Biomédica (INIBIC)  
y Profesora Asociada de Microbiología de la Universidad de A Coruña (UDC)

# Introducción

Con el simple gesto de darle al pulsador de la cisterna parece que nuestros residuos biológicos desaparecen para siempre. Sin embargo, nuestros residuos van a parar a una planta depuradora. Las plantas que depuran agua están localizadas estratégicamente en todas las ciudades y localidades a lo largo de todo el mundo para poder recoger los residuos de la población. En ellas, el agua que contiene nuestros desechos biológicos sufre un procesamiento que incluye diferentes etapas que implican la separación de los residuos sólidos, procesos biológicos en los que intervienen bacterias o una higienización con rayos UV, vertiéndose finalmente el agua depurada al medio natural; ríos, mares, etc. Durante este procesamiento las depuradoras son capaces de eliminar gran parte del material biológico. Sin embargo, no son capaces de eliminar contaminantes persistentes que van a parar al medio natural. Además, las plantas depuradoras, son muy útiles para generar sustancias de interés, como, por ejemplo biometano, o lodos, que se emplean como abono en agricultura. Por eso, los científicos han reparado en las depuradoras, porque son lugares donde se llevan a cabo numerosas investigaciones de disciplinas diferentes en todo el mundo.

Además de eso, las depuradoras representan un fiel reflejo de la sociedad, de tal forma que podemos conocer los hábitos de la población analizando en el agua todos los restos de las sustancias que consumimos y excretamos en nuestras heces y orina. Así, por ejemplo, podemos conocer la tasa de consumo de sustancias como la cocaína, la cafeína, el paracetamol, antidepresivos o antibióticos, de una población y hacer estudios sociológicos de interés. Se puede decir, por tanto, que las aguas residuales son un espejo de la sociedad.

Por otro lado, sabemos que en nuestro intestino habitan cientos de microorganismos que constituyen lo que denominamos microbiota intestinal. Verdaderamente, esta microbiota intestinal ha de ser muy rica y variada y debe contener multitud de microorganismos que cohabitan en nuestro intestino en perfecto equilibrio y que son esenciales para nuestra vida. Sin ellos, no podríamos vivir ya que, entre otras cosas, regulan nuestro sistema inmunitario, fabrican vitaminas esenciales para nosotros, nos ayudan a realizar la digestión o ejercen de barrera protectora contra la invasión de otros microorganismos patógenos que nos pueden hacer daño. Así, cuando analizamos la biodiversidad microbiana de una muestra de heces de una persona sana, vemos que existen cientos de bacterias, virus y otros microorganismos cohabitando en equilibrio en nuestro intestino. Se trata de una microbiota sana y equilibrada, que es esencial para tener buena salud. Estos microorganismos beneficiosos y sus restos son excretados en nuestras heces y orina.

Pero nuestro organismo sufre ataques externos de microorganismos patógenos, como pueden ser los virus. Si analizamos las heces de una población, nos podemos encontrar multitud de virus de diferente tipo que son excretados en las heces, en mayor o menor cantidad, según la carga viral que tengamos en el cuerpo. Por eso, las depuradoras se han usado durante los últimos años para detectar la presencia o predecir brotes de microorganismos infecciosos cuyos restos se excretan en la orina o las heces. Este tipo de trabajos se han realizado exitosamente en virus tales como norovirus, sapovirus, virus de la hepatitis A o adenovirus (1,2).

SARS-CoV-2 está compuesto por una nucleocápside que contiene el material genético, que consiste en 30.000 bases de ARN, y la proteína N,

rodeada por una membrana bilipídica que contiene las proteínas M y E. A esta membrana la rodea una corona de espinas que contienen la proteína S. Es esta proteína S la que se ocupa de unirse a los receptores ACE2 (enzima convertidora de la angiotensina 2) presentes en gran variedad de células de nuestro cuerpo, sobre todo el epitelio alveolar pulmonar y en el epitelio intestinal. SARS-CoV-2 nos invade a través de las vías aéreas respiratorias superiores pero luego viaja por todo el cuerpo, alojándose también de forma persistente en el intestino. Cuando el virus se une a sus receptores, se puede desencadenar una cascada inflamatoria que origina la enfermedad que conocemos como COVID-19, que provoca, en numerosas ocasiones, un síndrome respiratorio agudo, que puede incluso llegar a desencadenar la muerte del individuo y, a menudo, otros síntomas de tipo neurológico o intestinal. A lo largo de este último año, gracias a un vertiginoso avance científico, se han ido diseñando diferentes test diagnósticos que son capaces de detectar la presencia de SARS-CoV-2. Se emplean, principalmente, muestras de la región nasofaríngea, ya que se pretende, sobre todo, aislar a individuos positivos que, además, contagien el virus mediante su respiración. Sin embargo, usando estos test diagnósticos, podemos detectar el virus en otro tipo de muestras, como las que proceden de nuestro intestino. De hecho, en ocasiones se han implantado también los test anales, muy útiles para realizar el seguimiento a pacientes con respiradores o para hacer determinados cribados poblacionales.

Por tanto, al unirse el virus a las células intestinales, SARS-CoV-2 se encuentra en las heces de las personas infectadas, tengan o no síntomas de COVID-19, desde el inicio de la infección hasta incluso un mes después de dar negativo en muestras

nasofaríngeas. Se puede afirmar que el virus persiste mucho más tiempo en el intestino de las personas infectadas que en la región nasofaríngea (3).

Por todo esto, las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) pueden servir como sistemas de alerta epidemiológica temprana, permitiendo conocer la verdadera magnitud de la pandemia de COVID-19, analizando la cantidad de virus presente en las aguas residuales de cada localidad. Esta estrategia epidemiológica permite obtener una imagen real de la epidemia, ya que no comete sesgos relacionados con el muestreo de individuos. Hemos podido contemplar cómo, a menudo, los datos sanitarios no son aleatorios, son incompletos o están sesgados. Verdaderamente, en nuestro entorno no somos capaces de hacer test a toda la población. Además, los test cometen a menudo cierto porcentaje de error, por lo que se puede escapar más de un positivo a las pruebas de cribado. Por ese motivo, es necesario utilizar otras herramientas complementarias que nos permitan conocer mejor lo que en realidad está sucediendo. La detección del virus en aguas residuales permite poder cuantificar la cantidad de virus presente en todo el conjunto de la población de forma global. Imaginando a la población infectada como si fuera un iceberg, en la parte superior visible flotante estarían las personas sintomáticas que se detectan en los sistemas de salud cuando la persona enferma acude al médico, mientras que las personas asintomáticas, aquellos casos invisibles e indetectables que representan un gran porcentaje de las personas infectadas, se representan en la parte inferior sumergida del iceberg. Hay que decir que la parte sumergida cada vez es menor, ya que los test de diagnóstico son cada vez más eficaces, de tal manera que cada vez detectar a más población asintomática, por lo que, como consecuencia, la parte sumergida indetectable es cada vez menor. Por otro lado, hay que resaltar que

los cribados son cada vez más numerosos pero todavía, en nuestro entorno, no somos capaces de hacer test a toda la población. Por eso, aunque la mejora en el rastreo y en la eficacia de los test ha sido espectacular, todavía una porción importante de la población asintomática permanece oculta, lo que implica que nos veamos obligados a usar mascarilla, a estar distanciados, a restringir nuestra movilidad, en definitiva, a no poder llevar una vida social normal.

El día 3 de Abril de 2020, el Profesor Gertjan Medema y su equipo publican un trabajo en la prestigiosa revista Nature (4) que trata sobre cómo las aguas residuales podrían revelar la verdadera magnitud del brote de coronavirus. Hay que remontarse al inicio de la pandemia de COVID-19, cuando estos investigadores holandeses advierten que la implementación de medidas de detección del virus en aguas residuales podría constituir una herramienta muy valiosa para establecer sistemas de alerta temprana que pudieran predecir nuevos brotes. Alertan de que las autoridades sanitarias están trabajando únicamente sobre la punta del iceberg, pero que el verdadero calado del problema se puede estudiar con mucha más profundidad monitorizando las aguas residuales de toda la población. Desde entonces, numerosos grupos de científicos de muchos países del mundo nos hemos puesto en marcha en el rastreo del virus en aguas residuales.

Un ejemplo reciente es un trabajo de un equipo australiano en el que se demuestra que el análisis de SARS-CoV-2 en las aguas residuales sirve como sistema de alerta epidemiológica temprana para adelantarse a las nuevas olas o brotes de COVID-19 (5). Existen ya numerosos ejemplos de este tipo a lo largo del

mundo. De hecho, se han creado muchas redes de vigilancia epidemiológica de SARS-CoV-2 en aguas residuales a diferentes niveles. Así, a nivel europeo, la RED NORMAN (<https://www.norman-network.net/?q=Home>) trata de fomentar la colaboración entre equipos de países en los que se analiza SARS-CoV-2 en aguas residuales, con el objetivo de generar conocimiento y crear bases de datos que ayuden a la toma de decisiones relacionadas con la pandemia. De hecho, desde la RED NORMAN, hemos publicado un trabajo sobre rastreo de SARS-CoV-2 en aguas residuales como resultado de la colaboración de 39 equipos de 20 países (6).

España también se puso en marcha con el rastreo de SARS-CoV-2 en agua residual. Así, los primeros trabajos surgieron desde el Centro de Edafología y Biología Aplicada (CEBAS-CSIC) de Murcia, desde el Instituto de Agroquímica y Tecnología de los alimentos (IATA-CSIC) de Valencia, o desde la Universidad de Barcelona, entre otros. De hecho, a mediados del año 2020, el gobierno español se plantea la creación de una red de vigilancia en aguas residuales y en Julio de 2020 se crea la red española de vigilancia epidemiológica, la red VATar COVID-19 (<https://www.elagoradiario.com/agua/la-red-vatar-analizara-el-agua-de-30-depuradoras-y-10-zonas-de-bano/>), en la que participan hoy en día numerosos equipos españoles.

También, desde nuestra comunidad autónoma gallega se dio una rápida respuesta y, en seguida, cuatro grupos de investigación de diferentes localidades se pusieron en marcha con el rastreo de SARS-CoV-2 en aguas residuales. Uno de los proyectos es el liderado por el Dr. Claudio Cameselle, que cuenta con investigadores del grupo Biotecnología de la Universidad de Vigo, de los grupos de Inmunología y Genómica e Ingeniería de

Procesos del Instituto de Investigaciones Marinas-CSIC de Vigo y con la empresa GESECO. Este proyecto está financiado por el programa Superacovid de la CRUE Universidades y por la empresa Augas de Galicia. El equipo vigués ha estado todo este tiempo muestreando y analizando aguas residuales de las EDAR de las localidades de Baiona, Nigrán, Gondomar, Cambados, Moraña, Porto do Son, Muros, Melide, Ares, Cedeira, Noia, Pobra do Carmiñal, Burela, Viveiro y Betanzos. Otro de los proyectos gallegos en marcha está liderado por el Profesor Jesús Romalde, del grupo de Virología Ambiental de la Universidad de Santiago de Compostela. Este proyecto está financiado por el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico y por la empresa Augas de Galicia. El equipo está integrado en la Red VATar COVID-19 y se dedica a rastrear en las EDAR de Santiago de Compostela y otras localidades gallegas. Colabora, además, con equipos de Reino Unido, Paraguay y Egipto. Otro de los proyectos gallegos es el denominado Alerta COVID, liderado por el Profesor Juan Lema, en el que participa el grupo CRETUS de la Universidad de Santiago de Compostela, personal sanitario del Hospital Álvaro Cunqueiro de Vigo y personal de las empresas Augas de Galicia, Idom y Adantia, siendo Aqualia, Emafesa, Espina y Delfin, Gestagua y Viaqua las empresas patrocinadoras. Este equipo ha estado tomando muestras de aguas y lodos de las EDAR de Viveiro, Burela, Lugo, Ourense, Ribeira, Sanxenxo, Vigo y Ferrol, distribuidas a lo largo de toda la geografía gallega (7).

Y, el otro proyecto gallego sobre rastreo de SARS-CoV-2 en agua residual es el que tengo la oportunidad de coordinar; COVIDBENS. Nuestro proyecto surgió

a principios de abril de 2020 cuando Carlos Lamora, director de EDAR Bens S.A. (Figura 1), la empresa de depuración de aguas residuales que da servicio a los aproximadamente 400.000 habitantes del área metropolitana de A Coruña, contacta conmigo para proponerme un proyecto orientado hacia la detección de SARS-CoV-2 en la depuradora. Desde entonces, la empresa pública EDAR BENS, que da servicio al ayuntamiento de A Coruña y a los municipios colindantes de Arteixo, Cambre, Culleredo y Oleiros, ha financiado desde abril de 2020 de forma ininterrumpida una primera, una segunda y una reciente tercera fase de COVIDBENS hasta en la actualidad, a lo que hay que añadir la reciente aportación de financiación de la empresa Augas de Galicia.



Foto aérea de la planta depuradora EDAR Bens S.A., A Coruña.

# Equipo Covibens

El equipo de COVIDBENS empezó siendo un grupo de cuatro microbiólogos confinados en plena primera ola de COVID-19 para convertirse en un gran equipo multidisciplinar. El equipo ha sido creado exclusivamente para este proyecto y, de hecho, muchos de los integrantes no nos conocíamos antes de la pandemia. Así, casi de forma natural, numerosos investigadores de varias disciplinas se han ido uniendo al equipo aportando nuevos conocimientos y puntos de vista, siendo esta la clave del éxito de COVIDBENS. De forma completamente altruista en plena primera ola, químicos, matemáticos, ingenieros informáticos, de caminos e industriales, epidemiólogos, farmacéuticos, etc, empezaron a colaborar y a conformar COVIDBENS con grandes dosis de voluntad y mucho trabajo.

A continuación se describe el equipo de COVIDBENS que coordino desde abril de 2020. Los microbiólogos que han participado y/o participan en COVIDBENS pertenecemos al Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC), al Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC) y a la Universidad de A Coruña (UDC). Estos son Germán Bou, que es además Jefe de Servicio de Microbiología del Hospital Universitario de A Coruña, Soraya Rumbo, Juan Vallejo, Noelia Trigo, Kelly Conde y Mohammed Nasser. Los estadísticos que participan en COVIDBENS forman parte del grupo MODES del Centro de Investigaciones en Tecnologías de la Información y de las Comunicaciones (CITIC) de la UDC; Inés Barbeito, Ángel Oriona, Manuel Vaamonde, Ignacio López de

Ullibarri y Javier Tarrío, dirigidos por el Catedrático de la UDC Ricardo Cao, Presidente de la Acción Matemática contra el coronavirus del CEMAT. Los ingenieros informáticos del Laboratorio de datos del CITIC, liderados por la Profesora Titular de la UDC Susana Ladra, son; Elisa Fernández, Borja Freire y José R. Paramá. También participan en COVIDBENS ingenieros industriales y técnicos de las empresas DIAGNÓSTICA y CADAGUA (Francisco Pérez, Javier Martínez, Cristina Rodríguez, Javier Fernández, José Manuel Lobelos y Carlos Varela), dirigidos por el ingeniero de caminos Carlos Lamora, director de la EDAR.

Contamos también con la colaboración de Rubén Reif, del CIMUS, Universidad de Santiago de Compostela (USC), con ingenieros de caminos del grupo GEAMA del CITEEC de la UDC, con el catedrático del grupo de filogenómica David Posada de la Universidad de VIGO-CINBIO, con Bruno K. Rodiño, director científico de la spin off Bflow de la USC, con la empresa Allgenetics & Biology S.L., con la catedrática de la UDC Ángeles Cid, con el epidemiólogo Antonio Acevedo de la Xunta de Galicia, con Andrés Paz-Ares, Xurxo Hervada, María Isolina Santiago y Alberto Malvar de la DXSP de la Xunta de Galicia, con Amalia Jácome, Ana López-Cheda, Rebeca Peláez y Wende Safari del grupo MODES del CITIC, con Miguel R. Luaces y Alejandro Cortiñas del grupo de Laboratorio de Datos del CITIC, con Fernanda Rodríguez de los SAI de la UDC y con Laura Larriba del SERGAS, entre otras personas.

# Objetivos de Covibens

Una primera aproximación del proyecto consistió en averiguar si éramos capaces de detectar el virus en la depuradora, lo que implicó poner a punto una serie de protocolos metodológicos. Más, tarde, a medida que se fue configurando el equipo multidisciplinar, nos pudimos plantear unos objetivos muchos más ambiciosos. Estos fueron, 1) el seguimiento de la epidemia mediante la monitorización de la carga viral de SARS-CoV-2 en la planta de tratamiento de agua residual en el transcurso de la epidemia de COVID-19, 2) el desarrollo de modelos estadísticos que permitieran estimar el número real de personas infectadas por SARS-CoV-2 en la población (incluyendo personas con o sin síntomas), 3) el desarrollo de un sistema de alerta temprana que nos permitiese avisar a las autoridades en caso de nuevos brotes y 4) la detección de mutaciones y variantes de SARS-CoV-2 en el agua residual mediante tecnologías de secuenciación masiva.



Algunos miembros de COVIDBENS durante la concesión de un reconocimiento concedido por la Real Academia Gallega de Ciencias (RAGC) el 22 de Julio de 2021 por el trabajo realizado sobre COVID-19. De izquierda a derecha Kelly Conde, Juan Vallejo, Marga Poza, Ricardo Cao, Susana Ladra y Javier Tarrío. Fue un día muy emotivo porque muchos miembros de COVIDBENS nos conocimos en persona ese día después de meses de trabajo muy intenso.

# Metodología

## Muestreo

Se recogieron muestras compuestas integradas de 24 horas desde el 14 de abril hasta la actualidad. La frecuencia del muestreo varió entre muestreo diario y dos muestras semanales, según el momento de la epidemia. Durante los primeros meses se recogieron muestras diariamente y muestras cada 2 horas en diferentes puntos. Se usaron siempre muestreadores automáticos. Se recogieron muestras de varios puntos de la ciudad, incluyendo el hospital público universitario, así como en la propia depuradora y en los municipios colindantes.

## Procesamiento

El procesamiento de las muestras, realizado por los microbiólogos del equipo, se realizó mediante centrifugación, filtración y diálisis, de tal forma que se obtiene una solución final enriquecida en virus.

## Cuantificación de la carga viral

La detección y cuantificación de la carga viral, o número de copias de ARN de SARS-CoV-2 por litro, realizadas por los microbiólogos del equipo, consistió en la extracción y purificación de ARN viral de las muestras, seguida de un proceso de retrotranscripción y una reacción de PCR. Para cuantificar la carga viral se usaron estándares comerciales. La posibilidad de realizar los ensayos por sextuplicado aumentó el valor estadístico del trabajo.

## Integración de datos

Los ingenieros informáticos intervinieron en este punto creando un laboratorio de datos para poder integrar datos clínicos, de carga viral, de caudales, de humedad, de temperatura, etc, con el fin de poder analizar la correlación entre diferentes variables.

## Modelos estadísticos

Los matemáticos del equipo buscaron modelos estadísticos que pudieran estimar el número de real de personas portadoras de COVID-19 en la población a partir de la carga viral en el agua. En primer lugar, fue necesario hacer una estimación de los casos positivos en el área metropolitana atendida por la EDAR, porque los datos de los que se disponía al principio de la pandemia estaban sesgados y eran incompletos. Por ello, se emplearon datos clínicos locales y datos del estudio de seroprevalencia nacional (ENE-COVID del Centro Nacional de Epidemiología) para realizar modelos de regresión lineal. Para estudiar la tendencia de la carga viral a lo largo del tiempo, se emplearon los modelos de regresión no paramétricos GAM y LOESS, y para predecir el número de portadores de COVID-19, es decir, personas infectadas por SARS-CoV-2, incluidas las sintomáticas y las asintomáticas, se emplearon modelos de regresión lineal y log-lineal simple y multivariantes, modelos no paramétricos, como el modelo de regresión polinómico local, y modelos semiparamétricos, como GAM y LOESS.

## Secuenciación del material genético del virus

La secuenciación del material genético del virus se hizo empleando una estrategia de secuenciación de amplicones, que implica un proceso de multiplex-PCR que amplifica 98 fragmentos del genoma del virus, seguido de la construcción de librerías genómicas y la secuenciación usando una plataforma miSeq de Illumina. La secuenciación fue llevada a cabo por los microbiólogos del equipo.

## Análisis bioinformático

El análisis informático fue llevado a cabo por los ingenieros informáticos. Los cientos de miles de lecturas de ADN obtenidas tras la secuenciación se filtran, ordenan y ensamblan. Posteriormente, se alinean y comparan con secuencias de genomas de variantes de virus de las bases de datos existentes, en busca de mutaciones.

# Resultados

## La carga viral se correlaciona con los casos clínicos

En primer lugar, tuvimos que averiguar si éramos capaces de detectar el virus usando la metodología descrita y si la carga de virus en el agua se correlacionaba con el número de casos reportados. Empezamos a rastrear al filo de la primera ola de COVID-19 en el área metropolitana de A Coruña el día 14 de Abril. Comprobamos como la evolución de la cantidad de virus en las aguas residuales a lo largo del tiempo, es decir, la carga viral, o el número de copias de material genético (RNA) del virus por litro, se correlacionaba con el número de casos de COVID-19 reportados por el sistema sanitario. Pero, para desarrollar los modelos estadísticos, tuvimos que analizar la correlación entre otras muchas variables; el caudal, la pluviometría, la humedad, etc. Así, mediante una matriz de diagramas de dispersión, los estadísticos del equipo, liderados por el Profesor Ricardo Cao, observaron que la correlación más fuerte, de todas las observadas entre las diferentes variables, se establecía entre los casos estimados de COVID-19 y el logaritmo de la carga viral detectada en el agua residual.

## Modelos estadísticos de Covibens

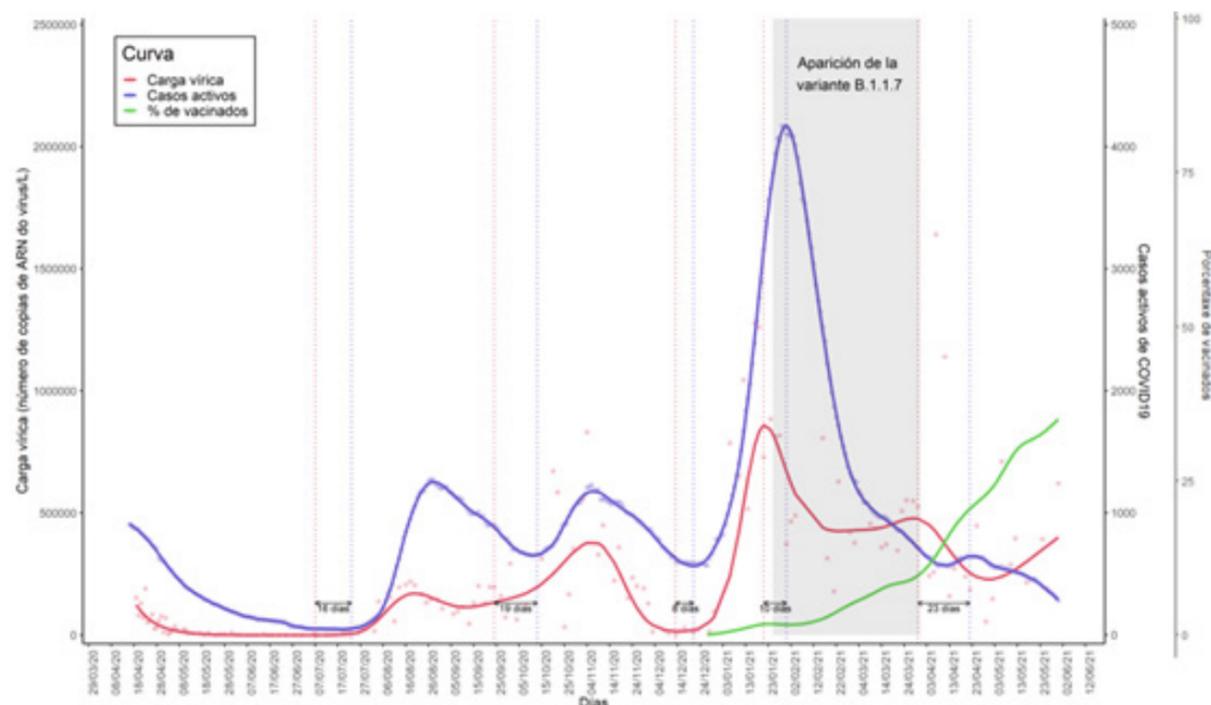
En base a todo esto, los estadísticos se pusieron a buscar modelos que sirvieran para estimar el número de personas infectadas en función de la carga viral en el agua y encontraron cuatro modelos que predecían el número total de portadores con una fiabilidad de casi el 90%. Uno de los cuatro modelos descritos, es el modelo de regresión lineal, que mostró valores de predicción muy buenos y que tiene la ventaja de su simplicidad. Este modelo emplea una sencilla fórmula a través de la cual se extrae el valor del número total de portadores partiendo del valor de la carga viral detectada en el agua residual. Es posible, de esta manera, intercalar el valor de carga viral en el agua residual en la ecuación para obtener el número de portadores.

## Covibens: sistema de alerta temprana

Durante la primera ola de la pandemia, COVIDBENS fue capaz de determinar los modelos estadísticos, pero el análisis de la carga viral ha continuado desde entonces hasta la actualidad. En el enlace <https://edarbens.es/covid19/> se pueden visitar los datos de carga viral que son actualizados semanalmente. En la figura siguiente se puede observar

una de las gráficas que se presenta en la página web. La curva azul representa los casos activos de COVID-19 reportados por el sistema sanitario, datos que nos cede semanalmente la Dirección Xeral de Saúde Pública (DXSP) de la Xunta de Galicia (XUGA). En la línea roja se representa la carga vírica en el agua residual (número de copias de ARN del virus por litro de agua). Y en la línea verde se puede observar el porcentaje de personas vacunadas en el área metropolitana, datos cedidos por la DXSP, XUGA. Tal como se puede apreciar, en el área metropolitana de A Coruña hubo cuatro olas de COVID-19. COVIDBENS comenzó durante el descenso de la curva de la primera ola y, a continuación, hemos ido anticipándonos a lo reportado por el sistema sanitario en muchas ocasiones, con una antelación de hasta 23 días, tal como se indica mediante líneas verticales. Se aprecia en la Figura 3 que incluso en alguna ocasión hemos detectado subidas de carga viral en el agua mientras los casos reportados por el sistema sanitario descendían, dibujándose curvas con tendencias opuestas. Es interesante destacar que el área gris marca el periodo de transición a la variante B.1.1.7 británica, que en poco tiempo dominó totalmente el panorama en A Coruña. En todos los casos, después de observar la tendencia al alza de la carga viral en el agua, ha sucedido una subida en los casos reportados por el sistema sanitario. Por tanto, COVIDBENS demuestra que el rastreo de SARS-CoV-2 en el agua residual constituye un sistema muy eficaz de alerta temprana. En todas las ocasiones

COVIDBENS ha podido alertar a las autoridades para que tomaran decisiones sobre movilidad, restricciones, preparación de los hospital, etc. Para ello, la eficaz transmisión de la información ha sido fundamental. Por otro lado, se puede apreciar en la Figura 3 que a medida que avanza el proceso de vacunación (línea verde) tanto la carga viral en el agua residual como los casos activos descienden. Resulta muy reconfortante poder ver con claridad que las vacunas desarrolladas en un tiempo récord funcionan muy bien.



Gráfica de alerta temprana realizada por investigadores del grupo MODES de la UDC, dirigidos por el Profesor Ricardo Cao. Superposición de la carga viral en el área de Bens (datos de COVIDBENS; "carga vírica" en la línea roja), los casos clínicos oficiales ("casos activos" en la línea azul, datos cedidos por la DXSP de la Xunta de Galicia), desde el 14 de Abril de 2020 hasta la actualidad. Datos de vacunación desde el día 27 de Diciembre hasta la actualidad ("porcentaje de vacunados" en la línea verde, datos cedidos por la DXSP de la Xunta de Galicia). Las líneas verticales informan sobre la alerta temprana. Se señala en gris el período de transición a la variante británica B.1.1.7.

## Estimación de portadores

Desde la aparición de la segunda ola en julio de 2020 hemos estado usando los modelos estadísticos determinados por el equipo de estadísticos para estimar el número de portadores de SARS-CoV-2, a partir de la carga viral detectada en el agua residual, de tal forma que, a lo largo de todos estos meses, hemos tenido la oportunidad de validar nuestros modelos. En la página web (<https://edarbens.es/covid19/>) se puede ver una gráfica que muestra la evolución en el número de portadores a lo largo del tiempo. Dichos valores siempre han sido mucho mayores que los reportados por el sistema sanitario, ya que una parte importante de asintomáticos sigue sin poder detectarse. Si representásemos el número de personas infectadas en el área por medio de un iceberg, veríamos que existe un iceberg verdadero desconocido que representa a personas portadoras, sean o no visibles, y otro iceberg estimado usando nuestros modelos estadísticos (véase Figura 2 del preprint on line: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.07.02.20144865v3>), que tiene una forma y un tamaño ligeramente diferentes, pero que es muy similar al verdadero, teniendo en cuenta el margen de error del 10 % que cometen los modelos de COVIDBENS.

## Rastreo de SARS-CoV-2 aguas arriba

Se puede utilizar el alcantarillado para rastrear la presencia del virus donde se requiera. Así, en un momento el equipo se propuso analizar las aguas procedentes de los 5 ayuntamientos por del área metropolitana por separado. Esta aproximación permite detectar brotes en zonas concretas, y posibilita el rastreo a lo largo del alcantarillado, de tal forma que se puede afinar el análisis del agua residual en edificios, hospitales, colegios, etc. COVIDBENS ha realizado un sub-proyecto que hemos denominado COVIDRES, de

rastreo en residencias de mayores que ha sido muy útil para cuidar a los mayores antes de la vacunación. Este sub-proyecto, financiado por la Consellería de Política Social de la Xunta de Galicia, fue extremadamente útil para saber que las vacunas estaban funcionando, pues los residentes, una vez vacunados, excretaban gran cantidad de virus en sus heces cuando estaban contagiados, pero no desarrollaban la enfermedad, permanecían sin síntomas. Este hecho, abrió una gran puerta a la esperanza, pues nos informó por primera vez sobre que las vacunas estaban funcionando.

## seqCOVIDBENS: rastreo de variantes en aguas residuales

Desde final del 2020 nos enfrentamos a un nuevo reto, siguiendo las recomendaciones recientes de la Comisión Europea; la detección temprana de mutaciones y variantes de SARS-CoV-2 en la población mediante la secuenciación masiva del material genético presente en el agua residual. En un momento determinado de la pandemia, debido a la presión que se ejerce sobre el virus, irrumpen las variantes del virus, muchas de ellas con consecuencias epidemiológicas graves. SARS-CoV-2, como cualquier virus, sufre mutaciones en su material genético de forma aleatoria y espontánea. Aquel virus cuyas mutaciones le confieran alguna ventaja será más exitoso. Una variante viene determinada por un virus que ha sufrido un conjunto de mutaciones. Algunas variantes van a tener un comportamiento ventajoso para su supervivencia. De tal forma que, según el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC: <https://www.ecdc.europa.eu/en>), las variantes pueden presentar cambios en cuanto a su capacidad de propagación, de evadirse del sistema inmunitario o de las vacunas o de provocar una enfermedad COVID-19 más grave. Así, el ECDC las clasifica en variantes de preocupación (VOC), en caso de que haya evidencias científicas de que la variante

presente alguno de esos cambios de comportamiento, variantes de interés (VOI), en caso de que haya sólo datos preliminares y variantes bajo vigilancia, en caso de que aún no haya evidencias ni datos preliminares pero que presenten mutaciones potencialmente peligrosas. En nuestra área metropolitana, la variante B.1.1.7 inglesa se impuso de una manera rápida y eficaz, tal como ha ocurrido en la mayor parte del planeta. Así, a mediados de marzo de 2021, se establece como variante predominante.

A principios de 2021 empezamos un proyecto piloto de secuenciación financiado por las empresas EDAR BENS y Augas de Galicia. Los primeros análisis de secuenciación en aguas residuales realizados por COVIDBENS en muestras del área metropolitana de A Coruña arrojaron valiosa información que demostró que nuestra metodología es capaz de detectar la aparición de nuevas mutaciones o variantes mucho tiempo antes de que estas sean detectadas en un cribado aleatorio de muestras nasofaríngeas. Esto implica que COVIDBENS puede servir también de alerta epidemiológica de nuevas variantes preocupantes; podemos anticiparnos a la aparición de una nueva variante. Así, desde principios de mayo de 2020, en COVIDBENS estamos haciendo una vigilancia epidemiológica a tiempo real y semanalmente de variantes en el agua residual mediante la tecnología de secuenciación de amplicones. Hay que señalar que el análisis bioinformático de las lecturas que se extraen tras la secuenciación de aguas residuales es muy complejo y está siendo llevado a cabo por el equipo de ingenieros informáticos liderados por la Profesora Susana ladra, en colaboración con los estadísticos de COVIDBENS liderados por el Profesor Ricardo Cao y con la ayuda del Profesor David posada, experto en filogenómica y que lidera el proyecto EPICOVIGAL (filogenómica de SARS-CoV-2 en Galicia). Si bien la metodología de secuenciación es muy similar a la que se hace con el virus aislado a partir de muestras nasofaríngeas, el análisis bioinformático a partir de muestras de aguas es muchísimo más complejo, ya que

implica la detección de todas las mutaciones y variantes presentes en una única muestra que representa a toda la población, mientras que en las muestras nasofaríngeas se secuencian una única variante. En la web <https://edarbens.es/covid19/> reportamos semanalmente una gráfica que muestra las mutaciones detectadas en el agua, su frecuencia y la variante/s en la que se encuentran, así como una tabla en la que damos información sobre las variantes encontradas cada semana en el área metropolitana de A Coruña y sus características.

## Conclusiones

El análisis de la carga viral en el agua residual constituye una valiosa herramienta para comprender la verdadera magnitud de la epidemia, ya que tiene en cuenta a todas las personas infectadas, tengan o no síntomas.

El análisis de la carga viral en el agua residual funciona como sistema de alerta epidemiológica temprana, demostrado por COVIDBENS en numerosas ocasiones, anticipándose a los brotes con hasta 23 días de antelación con respecto al sistema sanitario.

Los modelos estadísticos desarrollados en COVIDBENS permiten estimar el número de personas portadoras de SARS-CoV-2 en la población.

La secuenciación del material genético de SARS-CoV-2 en el agua residual permite determinar las mutaciones y variantes presentes en la población y anticiparse a la aparición de una variante preocupante; permite realizar una vigilancia epidemiológica de mutaciones a tiempo real.

# Bibliografía

Lun et al. 2018. Emerging Microbes & Infections 7 (1): 50.

David Polo et al. 2020. Water Research 186: 116404.

Yongjian Wu et al. 2020. The Lancet 5 (5): 434-435.

Gertjan Medema. 2020. Nature 580: 176-177.

Warish Ahmed et al. 2021. Science of the Total Environment 761:144216.

Lian Lundy et al. 2021. Water Research 199: 117167.

Sabela Balboa et al. 2021. Science of the Total Environment 772: 145268.

Juan Vallejo et al;

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.07.02.20144865v3>





# DESARROLLO DEL PROYECTO VATAR-COVID-19. TRABAJOS REALIZADOS Y RESULTADOS

Teodoro Estrela Monreal  
Director General del Agua  
Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico  
Gobierno de España

Como ha mencionado el Secretario de Estado de Medio Ambiente, Hugo Morán, el Ministerio empezó a ver una serie de iniciativas que se estaban produciendo en España, como en la región de Murcia o en la Comunidad Valenciana, que nos hizo pensar en la necesidad de tener una visión a escala estatal para conocer la evolución de esta enfermedad a través del análisis de las aguas residuales. Desde el principio creíamos que esta iniciativa no debería llevarse a cabo de forma aislado, sino que debíamos hacerlo conjuntamente con el Ministerio de Sanidad y por los organismos científicos.

En este sentido, conviene recordar que iniciamos el proyecto con la creación de un grupo en el que, por una parte, estaba la Dirección General de Salud Pública del Ministerio de Sanidad junto con las consejerías de sanidad pública de las comunidades autónomas, y, por parte del Ministerio para la Transición Ecológica y Reto Demográfico se encontraban las confederaciones hidrográficas, la Dirección General del Agua, las comunidades autónomas que tienen cuencas internas, los operadores de saneamiento de entidades locales y, finalmente, en relación con la ciencia y la investigación, se pensó en la incorporación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), algunas universidades que habían avanzado en esta parcela y el Centro de Estudios Hidrográficos del CEDEX. Gracias a este grupo preparamos un proyecto en tiempo record ya que en un mes conseguimos ponerlo en marcha.



## Equipo de trabajo

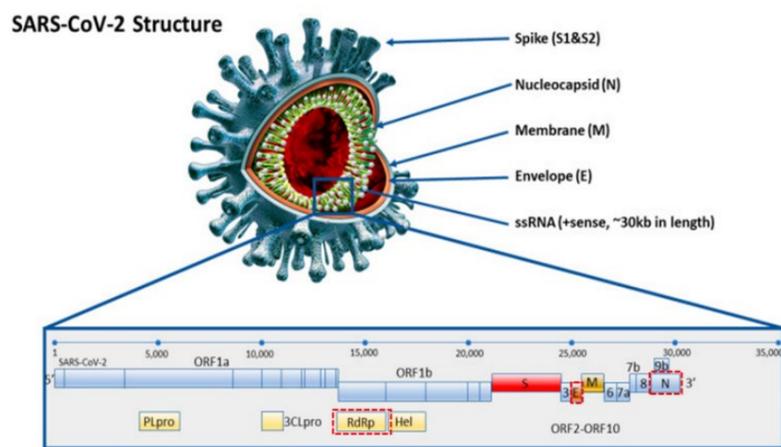


El proyecto es multidisciplinar e intervienen técnicos en ingeniería biológica, muestreadores (17) y 4 laboratorios acreditados (2 FIL laboratorios del CSIC y 2 laboratorios de las Universidades).

La siguiente cuestión era determinar dónde tomar las muestras. Se hizo una selección de depuradoras y zonas de baño distribuidas por todo el territorio estatal y para ello contamos con el apoyo de las comunidades autónomas, a las cuales se les fue pasando una primera propuesta que pudieron modificar a conveniencia hasta alcanzar unos puntos de control en las EDARs, analizando tanto la entrada de aguas residuales como la salida de las depuradoras. Por otra parte, también se llevaron a cabo la toma de muestras en zonas de baño.

La idea del proyecto, como puede verse en los autores de esta publicación, es detectar el material genético del virus, y para ello lo que se analiza es la **cadena del virus** y **qué partes** de esa cadena son más fácil de detectar en las aguas de residuales. Así, se decidieron tres dianas a utilizar en el proceso de detección del material genético del virus

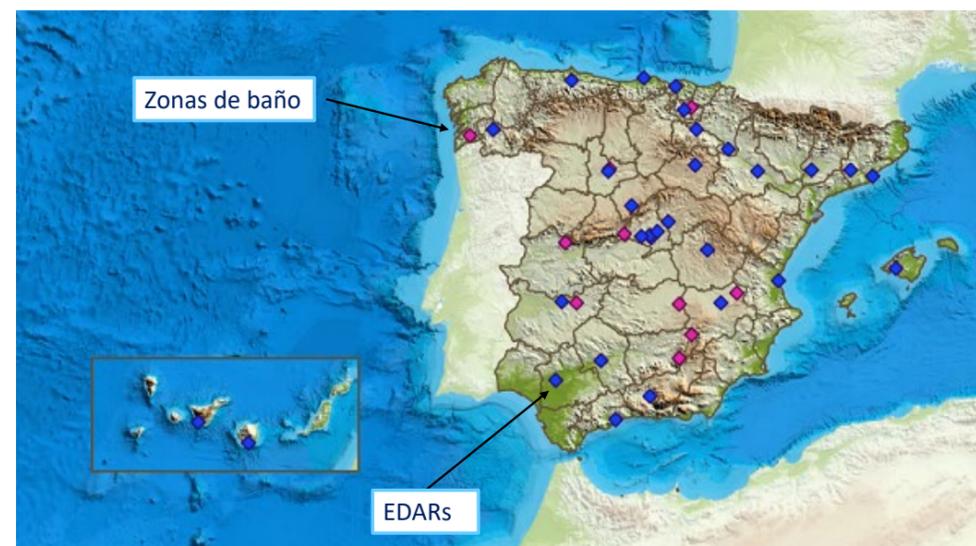
## Detección del material genético del virus



**Principales dianas para RT-qPCR del SARS-CoV-2.** Figura sacada de Kubina, R., & Dziedzic, A. (2020). Molecular and Serological Tests for COVID-19 a Comparative Review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and Point-of-Care Diagnostics. Diagnostics (Basel, Switzerland), 10(6), 434. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10060434>

- Dianas utilizadas
- RdRp --- IP4
  - E ----- E
  - N ----- N1

## Puntos de muestreo seleccionados



## Muestreos en estaciones depuradoras



## Procedimiento de muestreo



El proyecto empezó el 14 de julio de 2020 y para entonces hubo que tomar la decisión sobre la **periodicidad de muestreo**, que finalmente se optó por una frecuencia semanal para el caso de las aguas residuales que entran a las EDARs y una frecuencia de dos semanas en el caso de las aguas ya depuradas. Otra cuestión que se planteó fue la **hora del muestreo**, decantandonos por determinar **una hora optima** del muestreo a partir de la cual se estableció la frecuencia de muestreo semanal.

¿Cuáles son los resultados que hemos ido teniendo a lo largo de estos meses de trabajo? En un principio, cuando empezamos a finales de julio y principios de agosto, observamos que no en todas las depuradoras aparecía material genético del virus. Sin embargo, a las pocas semanas se detectó en todas ellas tal y como puede verse en el gráfico el de la parte de

la **abajo**. También vimos que era interesante, cómo indicador para saber lo que estaba ocurriendo en cada EDAR, el incremento, estancamiento o decrecimiento de una semana a otra. Estas comparativas vienen reflejadas en este **gráfico**, donde se ve la tendencia semana a semana de las estaciones depuradoras muestreadas.

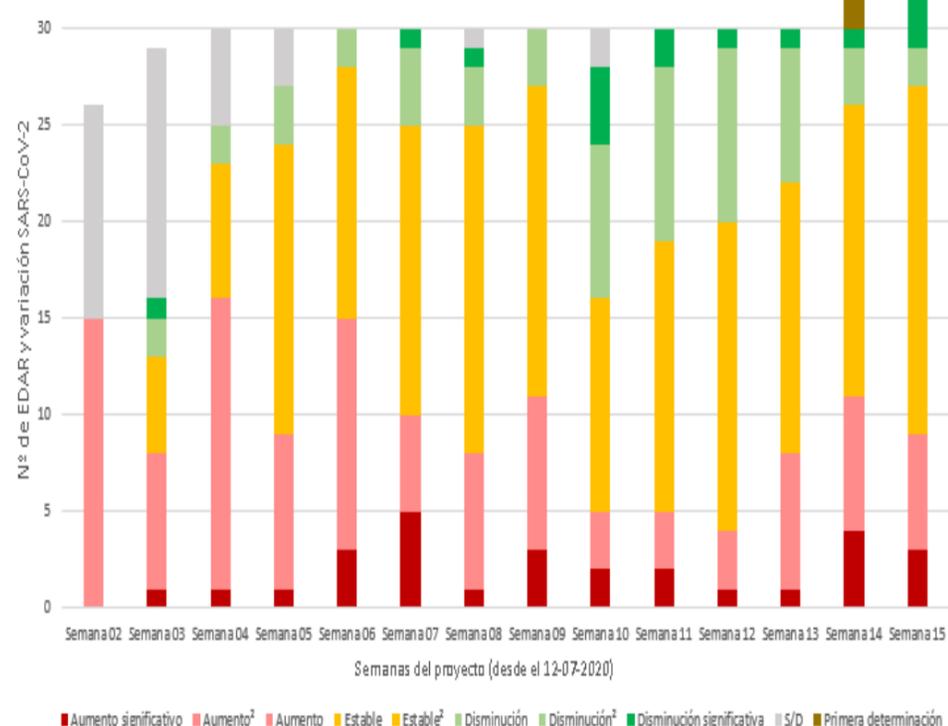
Como observamos, la presencia de rastros del virus se fue incrementando cada vez más (colores rojo, rosa y amarillo, que significa, en este último caso, la estabilización de los niveles). También vemos que hubo otro momento de disminución de la concentración (color verde) pero que, desgraciadamente, se volvió a producir una segunda ola y volvió a ser más residual. En ese momento, la situación era preocupante porque estábamos en una situación de crecimientos acumulados.

## Estaciones depuradoras. Resultados de entrada.

Seguimiento EDAR a la entrada y resultados SARS-CoV-2 por semanas



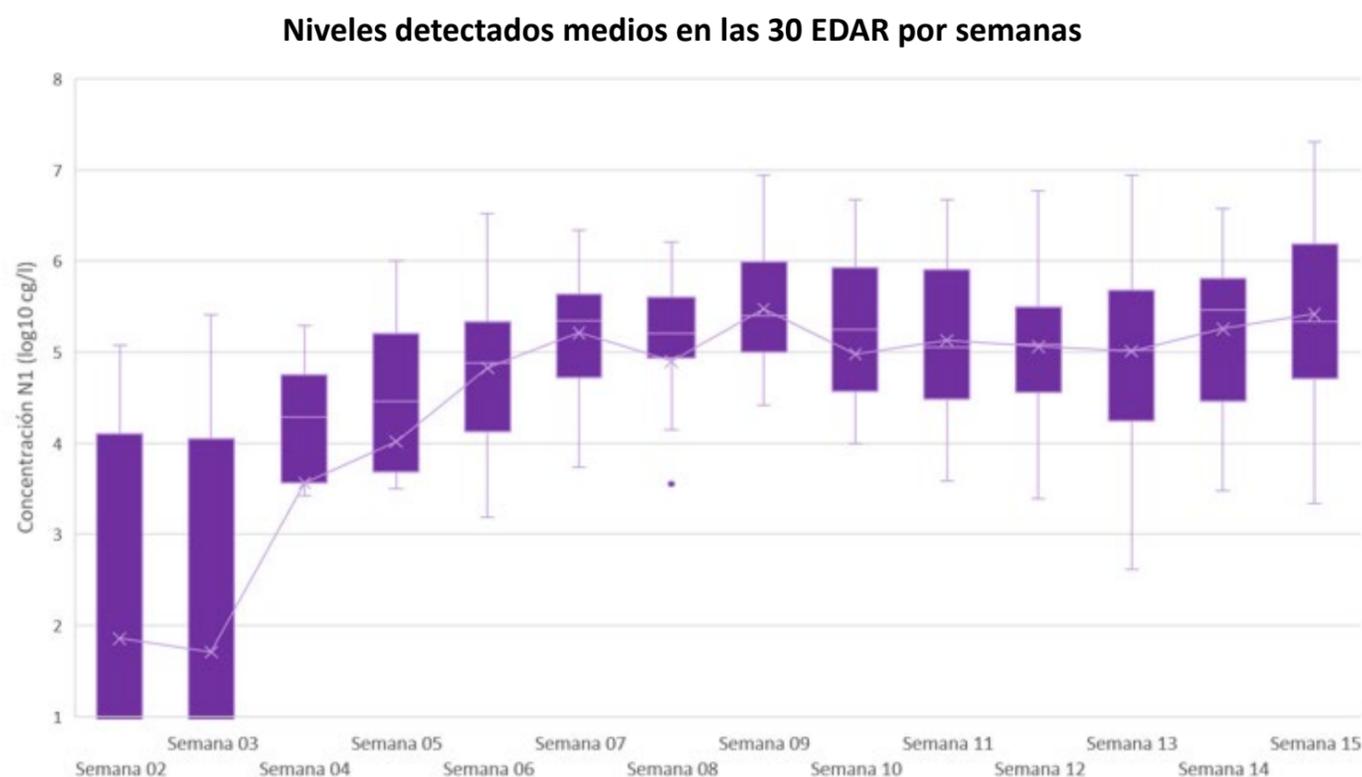
Seguimiento variación EDAR a la entrada por semanas



Otro gráfico interesante es el que pueden ver aquí abajo, donde se muestran los niveles semanales detectados en las 30 depuradoras. Para ello, se ha cogido una de las dianas más estables; la dianaNI (segmento más estable para aguas residuales). Como se puede observar, fueron creciendo las concentraciones desde finales de julio, cuando encontramos una leve disminución que, rápidamente, vuelve a crecer en las últimas semanas. Además, aquí hay un tema que es relevante, y es que estos datos de las últimas semanas

no son completamente comparables con los anteriores debido a que se han producido lluvias importantes, lo que provoca diluciones que maquillan los resultados. Actualmente, estamos trabajando en este tema, pero no es fácil el aplicar un factor que permita hacer absolutamente comparables los datos con los de las semanas anteriores en las que no se produjeron lluvias; con lo cual los últimos datos de la tabla tendría que reflejar un cierto crecimiento en la detección de material genético.

## Resultados de entrada.

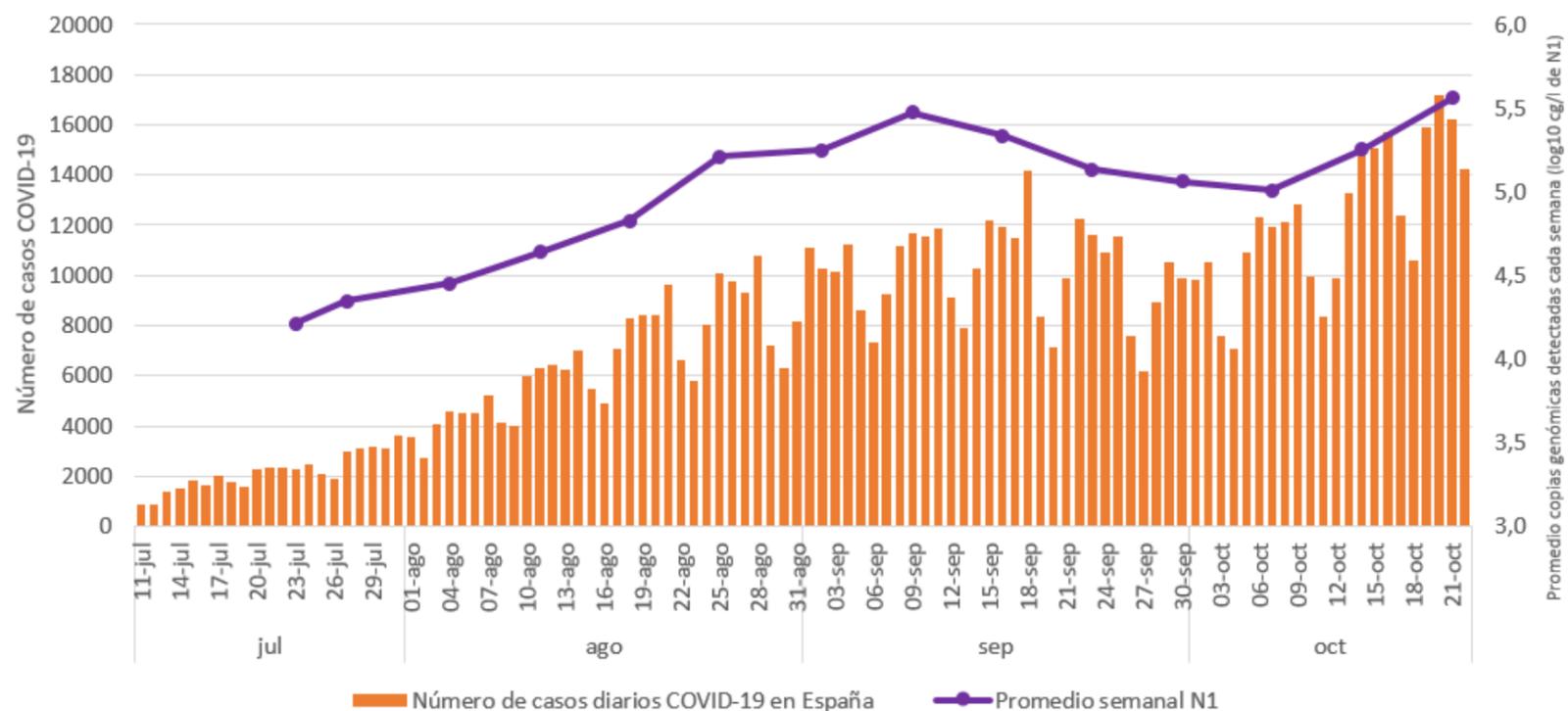


Si se compara la información anterior con los casos diarios de COVID obtenemos un análisis relevante. En el siguiente gráfico se muestra el promedio de las copias genómicas detectadas semanalmente en las 30 EDARs con la Diana N1, la más estable, con el número de casos diarios de COVID-19. La línea morada muestra una media de crecimiento interrumpida sólo durante el mes de septiembre a octubre, pero que vuelve a la senda alcista. Si lo comparamos con los números de casos, vemos que a partir de inicios de octubre, la línea morada debería mostrar un mayor crecimiento. Cosa que no se ha reflejado precisamente por lo comentado anteriormente, la entrada en las EDARs de las aguas pluviales y la disolución de la concentración del virus.

Esto es un elemento muy valioso pues se detecta una cierta anticipación al igual que en estudios realizados en otros países y que, por tanto, puede ser un sistema de alerta temprana sobre la evolución de la enfermedad.

Toda esta información se la suministramos al Ministerio de Sanidad y a todas las comunidades autónomas que están involucradas en el proceso. Todavía no se han hecho públicos de forma generalizada pero estamos trabajando para poder hacerlo con el acuerdo del conjunto de las comunidades. Mientras tanto, lo que hemos hecho es crear una página web donde se describe todo esto y dónde iremos poniendo, a medida que toda esta información vaya estando disponible, los datos, mapas y gráficos de tendencia. La información debe ser útil tanto para el Ministerio de Sanidad como para las consejerías de sanidad de las comunidades autónomas.

**Promedio copias genómicas detectadas semanalmente en las 30 EDARs y casos diarios de COVID-19 en toda España**



- Vertidos de aguas residuales**
- La autorización de vertido
- ¿Qué es un vertido?
- Tipos de vertidos
- Actividades que no requieren autorización de vertido
- ¿Cómo obtener una autorización de vertido?
- Censo Nacional de Vertidos
- Prevención de la contaminación por vertidos
- Entidades colaboradoras
- Alerta temprana COVID 19 en aguas residuales**

## Vigilancia microbiológica en aguas residuales y aguas de baño como indicador epidemiológico para un sistema de alerta temprana para la detección precoz de SARS-CoV-2 en España



La vigilancia microbiológica en aguas residuales puede utilizarse como indicador epidemiológico para la detección de la circulación del virus en la población. Las experiencias previas en la utilización de esta herramienta han demostrado su sensibilidad, incluso cuando la prevalencia de la COVID-19 presenta niveles bajos en la población.

Dichas experiencias previas se realizaron, tanto para obtener información sobre los riesgos para los trabajadores en contacto con las aguas residuales, como para comprobar su eficacia en la detección de material genético de SARS-CoV-2 en aguas residuales, y su posible utilización como sistema complementario a la vigilancia sanitaria de los pacientes afectados por la COVID-19.

En base a los resultados obtenidos, se ha puesto en marcha este proyecto de **Vigilancia microbiológica en aguas residuales y aguas de baño como indicador epidemiológico para un sistema de alerta temprana para la detección de SARS-CoV-2 en España.**



**Destacados**

-  [Instrucción SEMA diagnóstico masas de agua](#) 357,31 Kb
-  [Alerta temprana COVID-19 en aguas residuales](#)

**Imágenes cedidas por el CSIC: Alerta temprana COVID-19 en aguas residuales**



 [Ver Galería](#)

**Alerta temprana COVID-19 en EDAR**





# RED DE VIGILANCIA DEL SARS-COV-2 EN AGUAS RESIDUALES DE CATALUNYA

Marc Moliner Rafa.  
Agència Catalana de l'Aigua.

Durante el año 2020 la humanidad ha hecho frente a uno de los retos más importantes de las últimas décadas. La pandemia provocada por el SARS-COV-2 constituye la primera amenaza sanitaria de la era de la globalización y, de manera singular, la primera que ha afectado de manera significativa a los países desarrollados, que hasta ahora se habían conseguido mantener a salvo de las crisis epidémicas mundiales.

Esta crisis nos ha colocado en un escenario inédito en muchos sentidos y ha obligado a tomar medidas que nunca antes se habían adoptado. La novedad de la situación ha obligado a diseñar e implantar nuevas herramientas, tanto para mantener, en la medida de lo posible, las actividades habituales, como para combatir la pandemia o, en su defecto, minimizar su impacto.

Uno de los principales esfuerzos se ha dirigido a la detección precoz y al seguimiento de la propagación del virus entre la población. En este sentido, se ha retomado el interés por la epidemiología de las aguas residuales urbanas como herramienta para monitorizar la circulación del virus SARS-CoV-2 en las poblaciones que generan las mismas.

Esta utilidad era ya bien conocida por microbiólogos y virólogos ambientales para el seguimiento de otros patógenos (ej: Poliovirus) y se ha confirmado también para el SARS-COV-2. Así, entidades de todo el planeta han empezado a analizar las aguas residuales de las grandes ciudades para obtener información que pudiera ser de utilidad para el conocimiento de la extensión de la epidemia, así como para la adopción de medidas de anticipación.

En este sentido, se ha podido constatar que el análisis de los restos genéticos del SARS-CoV-2 en las aguas residuales presenta las siguientes ventajas:

1. Proporciona información del nivel de circulación del virus en la población de manera agregada y sin necesidad de costosas campañas de testeo individual.
2. Permite anticipar la detección y cuantificación de la evolución de la pandemia en los estados iniciales de la infección, antes que aparezcan las patologías que llevan a los pacientes a los centros médicos, donde se confirma (y, por ende, se contabiliza) su contagio.

3. Incluye tanto a los individuos sintomáticos como a los asintomáticos o pre-sintomáticos.

Estas circunstancias permiten, además de adquirir de una fotografía del progreso de la epidemia, disponer de un sistema de alerta temprana para anticipar su aparición y extensión.

Como todo lo que ha sucedido en relación con esta crisis, los hechos han evolucionado muy rápidamente, en base al conocimiento que se iba adquiriendo día a día. Esto ha sido así tanto en el ámbito clínico, como en el de la protección y prevención de la salud, como también en el científico. Se han puesto a punto métodos analíticos, sistemas de medida y análisis de datos en un tiempo récord y en unas condiciones extremadamente difíciles debido tanto al confinamiento y las restricciones en la movilidad como por la limitación de suministros de laboratorio y reactivos básicos. A pesar de estas condiciones extremas el mundo científico ha respondido de manera ejemplar y muy satisfactoria.

Catalunya no ha sido ajena a este proceso, con las siguientes particularidades:

1. La disponibilidad de una extensa red pública de saneamiento, con más de 500 sistemas en operación a lo largo de todo el territorio.
2. La existencia de laboratorios expertos del ámbito universitario con una extensa experiencia en el estudio de virus, así como en las técnicas analíticas más avanzadas, no únicamente de detección y cuantificación, sino también en el conocimiento de la matriz agua residual.
3. El firme compromiso del Gobierno de la Generalitat de liderar y coordinar la lucha contra el virus de manera efectiva desde todos los frentes posibles.

En base al marco descrito, desde el inicio de la pandemia el departamento de Salud y el de Territorio y Sostenibilidad han trabajado de manera coordinada con el objetivo final de llevar a cabo la implantación de una red de seguimiento y alerta temprana del SARS-COV-2 en las aguas residuales de Catalunya.

La toma de decisiones ha contado con la contribución de las personas expertas en la temática, las cuales han podido hacer sus aportaciones mediante la participación en un panel de expertos constituido para esta finalidad.

El resultado de este proceso ha sido la puesta en marcha, en un tiempo récord de la “Xarxa de Vigilància del SARS-CoV2 en Aigües Residuals de Catalunya”, conocida como red SARSAIGUA, iniciada tan sólo 4 meses después del primer caso de Coronavirus detectado en Catalunya.

El establecimiento de la red se ha basado en la toma de muestras semanales en 45 EDAR repartidas por toda la geografía catalana, implicando a un total de 56 sistemas de saneamiento. Una actividad que se ha realizado de manera ininterrumpida desde la primera semana de julio de 2020 hasta la actualidad. De esta manera, los resultados de los análisis, obtenidos entre 48 y 72 horas después de la obtención de la muestra, proporcionan una imagen del estado de circulación del virus en la población del país.

A continuación, se presentan los aspectos singulares clave de la red SARSAIGUA:

1. Proyecto 100% público, impulsado y financiado íntegramente por el Gobierno, con la participación de organismos y la utilización de infraestructuras públicos.

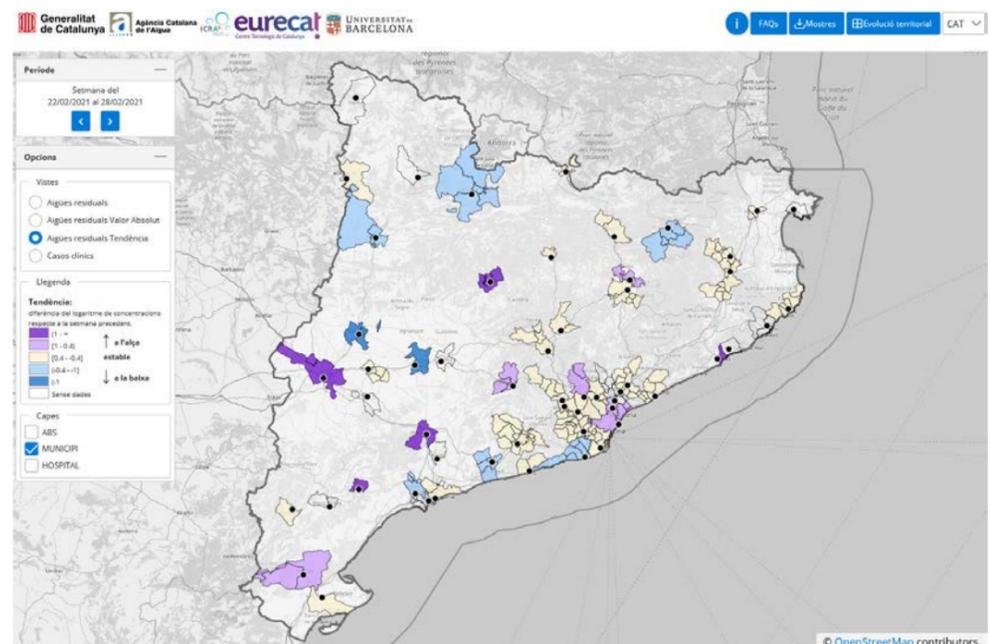
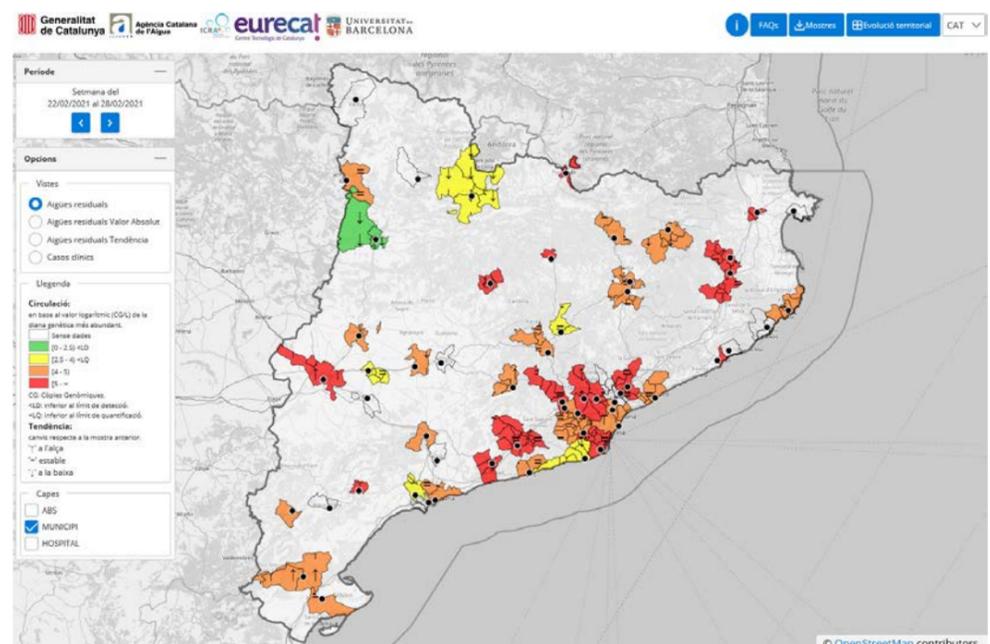
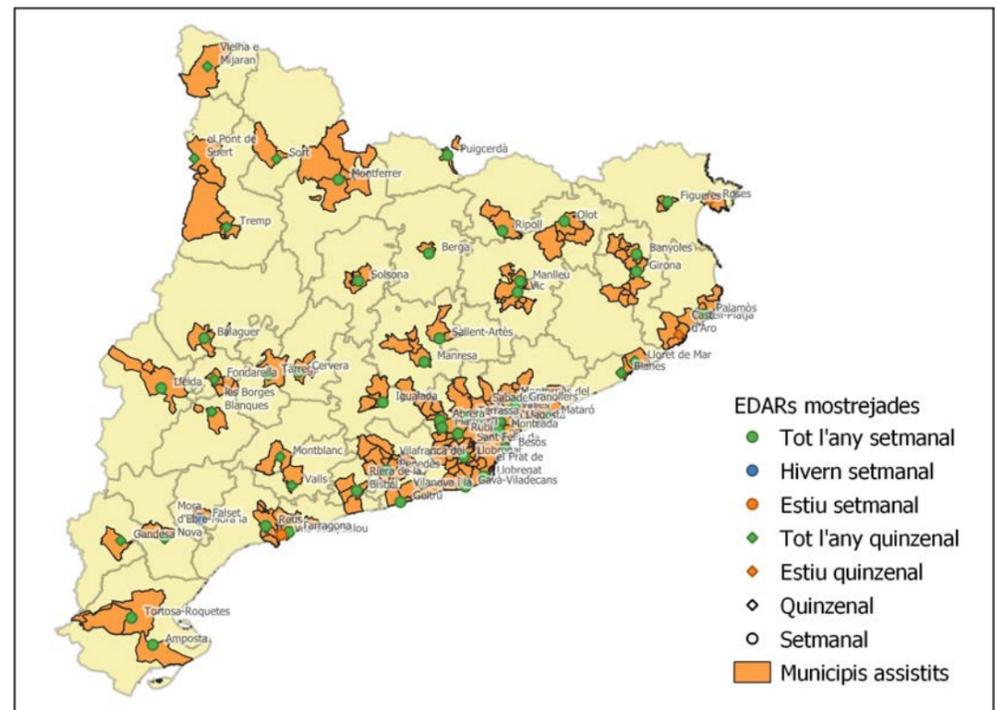
2. Proyecto con una importante componente de investigación y de puesta a punto de los métodos de preparación de muestras y de análisis. Esta circunstancia pretende dar una respuesta adecuada a la novedad de la cuestión, así como a la necesidad de incrementar el conocimiento respecto de la misma.
3. Participación de 3 laboratorios especializados, 2 del ámbito universitario y un centro tecnológico, con el objetivo de dar respuesta a las necesidades de la red y, al mismo tiempo, de generar un entorno de investigación y desarrollo compartido.
4. Seguimiento y análisis del funcionamiento de la red por parte de un panel de personas expertas del ámbito técnico y científico.
5. Iniciativa basada en la colaboración de los organismos gubernamentales responsables de la gestión del saneamiento y de la salud.
6. Objetivo final de suministrar información a los responsables de gestión sanitaria y de salud pública para apoyar la toma de decisiones en la lucha contra la pandemia. La red tiene, por tanto, una clara vocación de servicio público.
7. Compromiso de continuidad temporal a largo plazo.
8. Posibilidad de incorporación de mejoras (como el seguimiento de mutaciones del virus y su distribución geográfica).
9. Transparencia en los resultados y difusión de los mismos a tiempo real, los cuales se publican en una página web de libre acceso al público general y en un repositorio gratuito para su utilización con fines de investigación (<https://sarsaigua.icra.cat/>).

La red presenta las siguientes características específicas:

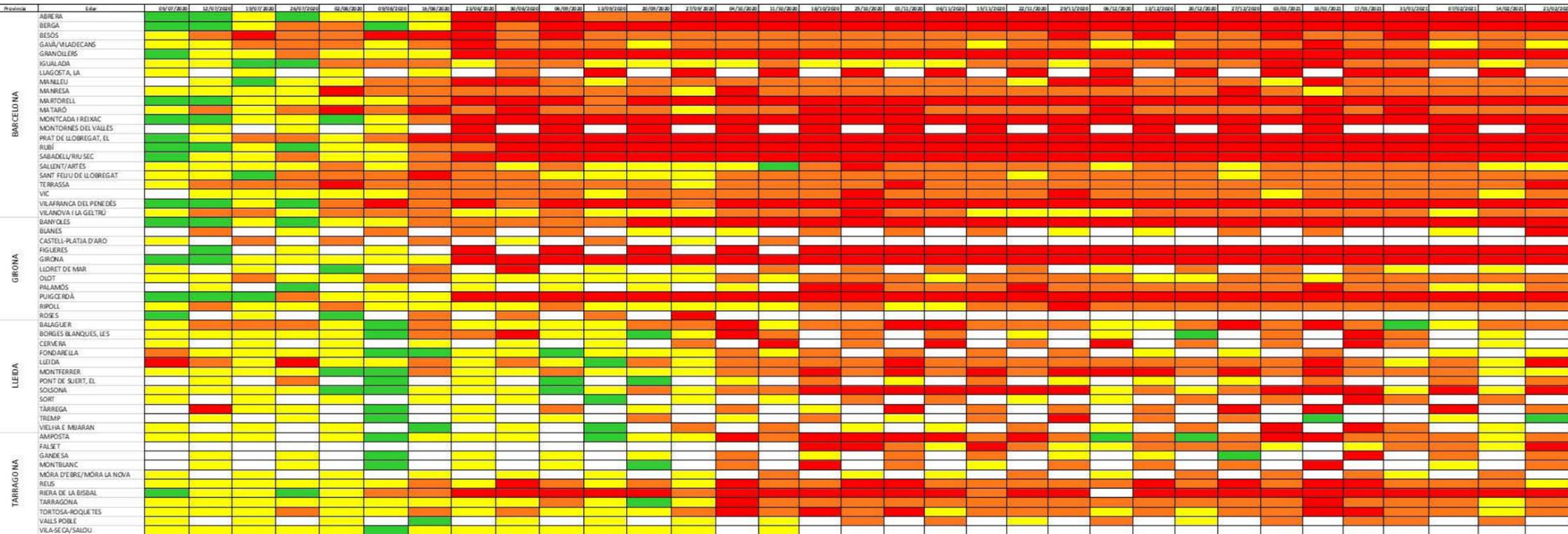
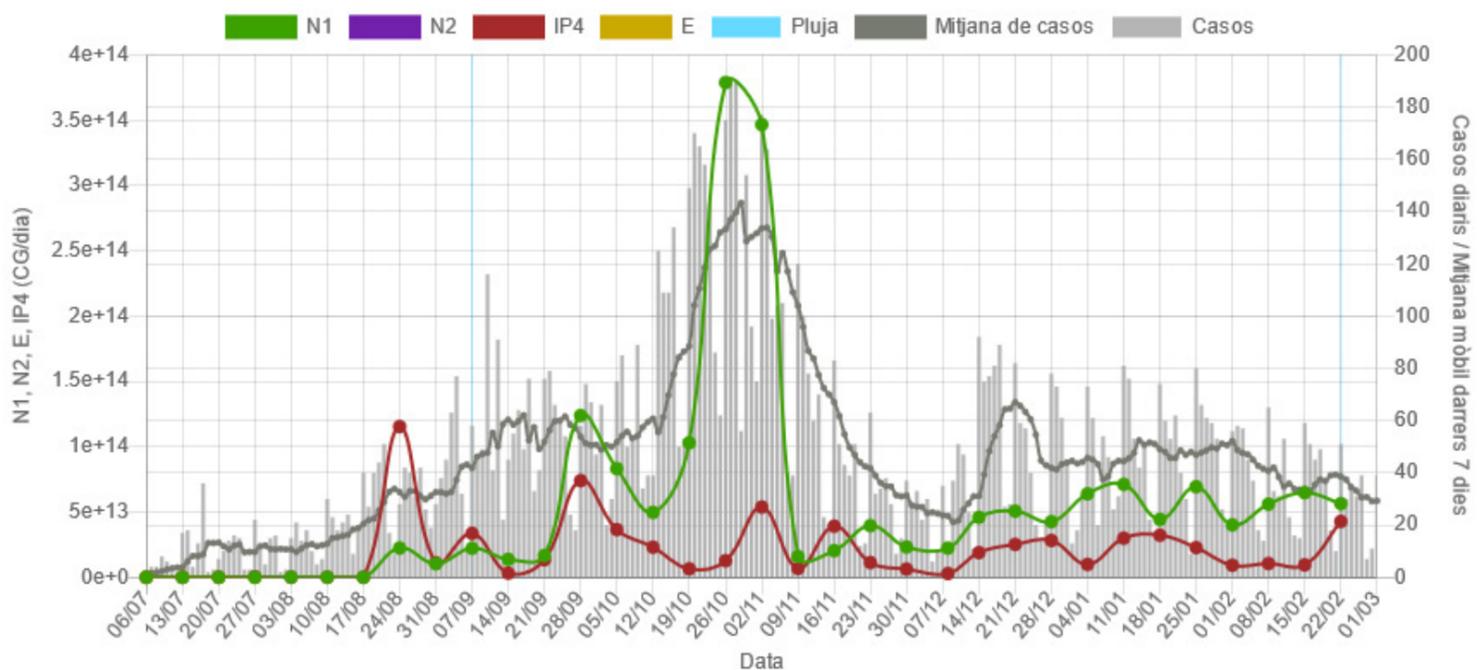
1. Basada en muestras integradas, con corrección de caudal.
2. Coordinación técnica especializada (llevada a cabo por personal experto de la Fundación Instituto Catalán de Investigación del Agua, ICRA).
3. Frecuencia de muestreo semanal.
4. Participación de 3 laboratorios (Laboratorio del Grupo de investigación en biología molecular de virus entéricos y Laboratorio del Grupo de investigación en virus, bacterias y protozoos de interés en salud pública y seguridad alimentaria de la Universidad de Barcelona y el Centre of Osmic Genomics de la Fundación EURECAT).
5. Utilización de 3 dianas genómicas de detección del virus distintas (2 por laboratorio).
6. Realización de ejercicios de intercomparación.

El proyecto pone de manifiesto el valor de la red de saneamiento como infraestructura humana y material al servicio de la sociedad.

Los resultados obtenidos hasta el momento ponen de relieve el valor del trabajo llevado a cabo y el importante potencial de la red como soporte a la toma de decisiones y al conocimiento del estado de salud de la población, tanto en este episodio particular, como en las futuras situaciones que se plantee monitorizar.



Evolució de la càrrega diària de número de còpies genòmiques (escala decimal) i nombre de casos Covid-19



# Bibliografía

Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R, Brouwer A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. *Environmental Science & Technology Letters*. DOI: 10.1021/acs.estlett.0c00357

World Health Organization 2020. Status of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus. WHO reference number: WHO/2019-nCoV/Sci\_Brief/EnvironmentalSampling/2020.1





# **PREVALENCIA Y CONCENTRACIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DE SARS-COV-2 EN AGUAS RESIDUALES DE LA COMUNIDAD FORAL DE NAVARRA**

Andrea López, Jairo Gómez, Roberto Ferrández, Fernando Mendoza.  
Navarra de Infraestructuras Locales S.A. (NILSA).

# Introducción y objetivos

En marzo de 2020 la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, WHO) declara la enfermedad de COVID-19, causada por el coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2), una pandemia.

Algunos estudios demuestran que el SARS-CoV-2 afecta al tracto gastrointestinal y se ha detectado la presencia de ARN viral en heces y orina de personas infectadas (Chen et al., 2020; Gao et al., 2020; Kitajima et al., 2020). Varios autores indican que se obtienen muestras fecales positivas durante una media de 27,9 días desde la aparición del primer síntoma (Wu et al., 2020). Por otro lado, la detección del virus en aguas residuales puede explicarse por la presencia de individuos potencialmente sintomáticos, asintomáticos o presintomáticos, de manera que la vigilancia de las aguas residuales puede resultar una herramienta sensible para el seguimiento de la circulación del virus en la población (Medema et al., 2020). Por todo ello, se plantea la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales como una estrategia de vigilancia epidemiológica que pueda ser de ayuda en el control de la propagación de la infección (Randazzo et al., 2020).

Por su parte, NILSA tiene desde 2014 una línea de actuación en el ámbito de I+D+i denominada “Mejora de la calidad sanitaria de aguas y lodos”, debido a su interés en ampliar conocimientos relativos a la presencia y el comportamiento de microorganismos indicadores de que pueda existir un riesgo sanitario y ambiental en las Estaciones Depuradoras de Aguas

Residuales (EDAR), tanto en la línea de tratamiento de aguas, como en la línea de tratamiento de fangos y en la disposición final de los fangos producidos en agricultura. Dicha línea investigación ha dado lugar a una Tesis Doctoral y a varias publicaciones a nivel científico (López et al., 2019).

El objetivo del estudio llevado a cabo desde NILSA es conocer la prevalencia y concentración de material genético del virus SARS-CoV-2 en aguas residuales de la Comunidad Foral de Navarra (CFN). Para alcanzar este objetivo se han planteado, inicialmente, los siguientes objetivos parciales:

1. Conocer los posibles riesgos para los trabajadores de las instalaciones de depuración asociados a la presencia del virus en aguas residuales.
2. Establecer una red de colaboración entre las diferentes entidades públicas de Navarra para la puesta en marcha del estudio, desde la toma de muestras hasta el análisis y discusión de resultados.
3. Determinar el momento óptimo para el muestreo en función de la carga orgánica recibida en las EDAR.
4. Estudiar la posibilidad de emplear los análisis en muestras de agua residual como indicadores o herramienta complementaria para el seguimiento de la enfermedad en diferentes poblaciones de CFN, ya que una muestra de agua residual puede contener información relacionada con miles de habitantes de una misma población.

# Materiales y métodos

## Selección de EDAR objeto de estudio

En la propuesta inicial para el comienzo del estudio en Navarra se seleccionaron 5 EDAR, por ser las de mayor tamaño de la CFN o por haber tenido una elevada incidencia del virus al comienzo de la pandemia. Además, se decidió analizar por su elevado interés la muestra del colector del Hospital de Tudela, que tiene un colector diferenciado que recoge únicamente las aguas de esta instalación.

Las EDAR y colectores de interés seleccionados en el comienzo del estudio fueron: EDAR de Arazuri (incluye la ciudad de Pamplona), EDAR de Tudela, Colector Hospital de Tudela, EDAR de Tafalla-Olite, EDAR de Estella, EDAR de Artajona.

Por otro lado, a lo largo de las semanas que ha durado el estudio, se han ido realizando algunas modificaciones en relación a las EDAR y los puntos seleccionados en función de los intereses en cada etapa del trabajo.

En concreto:

1. Tras 4 semanas de muestreo, se deja de coger a la salida de las EDAR de manera rutinaria. A partir de la semana 15 se vuelve a coger muestra a la salida de la EDAR de Tudela y alguna en la salida de la EDAR de Arazuri.
2. Deja de cogerse en el colector del hospital de Tudela desde la semana 15.
3. Artajona se muestrea únicamente las 7 primeras semanas.

4. Se incorporan al estudio la EDAR de Bera en la semana 13 y las EDAR de Bajo Ega y Bajo Argá en la semana 20 para distribuir el muestreo a lo largo de toda la CFN.
5. Se coge alguna muestra puntual en los fangos de Tudela.

Con todo ello, la figura 1 muestra las EDAR en las que se ha cogido muestra durante el estudio.



Figura 1: EDAR objeto de estudio

## Contrato de apoyo tecnológico con centros de CSIC

Una vez elaborada una propuesta de trabajo inicial y para dar los primeros pasos del estudio, en mayo se contactó con los centros IATA-CSIC y CEBAS-CSIC, que ya habían comenzado a realizar trabajos de investigación en EDAR en otras comunidades como Murcia. Se acuerda establecer un Contrato de Apoyo Tecnológico denominado “*Estudio de la prevalencia y concentración del virus SARS-CoV-2 en aguas residuales de diferentes Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) ubicadas en la región de Navarra*”. La colaboración se establece para 3 meses e incluye, en primer lugar, el envío muestras semanales durante 10 semanas a los centros de investigación situados en Valencia y Murcia para la determinación de material genético. Por otro lado, el contrato incluye el apoyo tecnológico necesario y el asesoramiento para que NASERTIC pueda implementar la metodología analítica puesta en marcha por CSIC e ir teniendo acceso a las nuevas actualizaciones del protocolo (Randazzo et al., 2020). NASERTIC es una empresa pública de Navarra que tiene un laboratorio de análisis donde se dispone de equipos para la determinación de ARN mediante análisis cuantitativo de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Además, el personal está, durante el periodo del contrato e incluso después, disponible para consultas, asesoramiento y evaluación de los resultados que se van obteniendo.

## Toma de muestras y análisis de RT-qPCR

Para la recogida de muestras se cuenta con la empresa pública Gestión Ambiental de Navarra (GAN-NIK), que establece una ruta por las EDAR objeto de estudio para recoger las muestras en cada punto en el mismo intervalo de tiempo semanalmente y se encarga del envío de las muestras al laboratorio donde se van a analizar en las condiciones de conservación adecuadas (hasta finales de julio se envían a Valencia y Murcia y posteriormente a NASERTIC).

La determinación de material genético del virus SARS-CoV-2 se hace mediante la técnica de RT-qPCR. El método analítico incluye las etapas de concentración de la muestra, extracción, detección y cuantificación del ARN viral (RT-qPCR). Los genes diana empleados durante el estudio son NI y N2 (CSIC, 2020). Los resultados se expresan en copias genómicas por litro (cg/L). También se facilita el dato del valor umbral del ciclo (CT) relacionado con los ciclos que son necesarios para detectar el material genético en la muestra, de tal forma que, cuanto menor es este término, mayor es la concentración de material genético.

## Toma de muestras y análisis de materia orgánica y concentración microbiológica

Se realizan varios ensayos cogiendo con un tomamuestras refrigerado muestras cada compuestas cada 2-4 horas dependiendo del ensayo y en un intervalo entre 8 y 24h. Se determina la concentración de coliformes totales y *Escherichia coli* (*E.coli*) mediante el método de la siembra en superficie en medios de cultivo selectivos (SCHARLAU®). Los análisis de parámetros microbiológicos se han llevado a cabo en la Universidad de Zaragoza, en el grupo de investigación Agua y Salud Ambiental. Estos ensayos se realizan al menos en 4 días no consecutivos.

## Resultados

### Evolución temporal de la materia orgánica y la concentración microbiológica en el agua de entrada a la EDAR

Algunos de los resultados de la determinación de concentración de *E.coli* en las muestras de entrada a la EDAR se muestran en la figura 2.

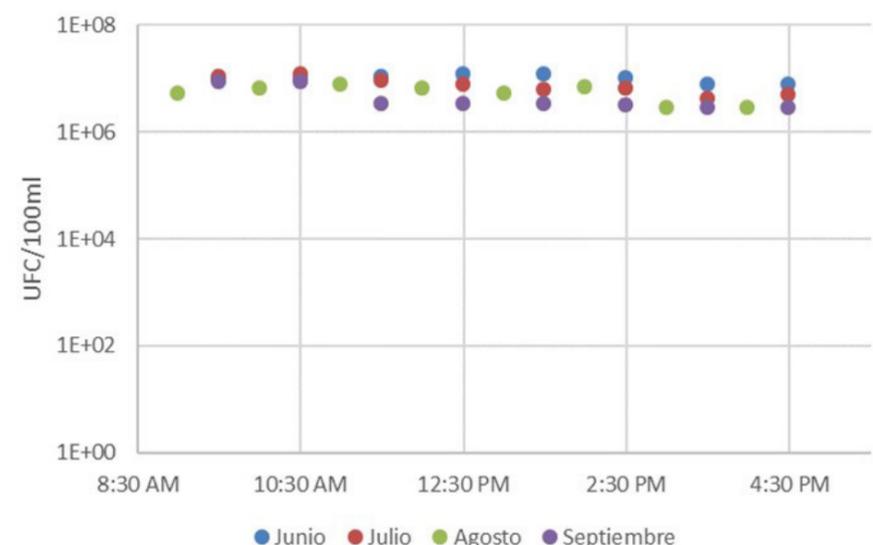


Figura 2: Evolución temporal (8h) de *E.coli* en la entrada de la EDAR de Tudela.

Tal y como se observa en la figura 2, la concentración de indicadores microbiológicos se encuentra en un rango de valores muy similar a lo largo de las horas de muestreo. Por lo tanto, la recogida de las muestras de agua para la determinación de material genético del SARS-CoV-2 se realiza siempre en la misma franja horaria, aunque no ha habido que modificar esa franja tras estos resultados. Estos resultados se observaron en todos los días en los que se realizó el ensayo.

# Evolución de la presencia de material genético

La Figura 3 muestra la evolución de la detección de material genético de SARS-CoV-2 a lo largo de las semanas de estudio en las EDAR seleccionadas.

Tal y como se observa en la figura 2, a partir del mes de julio se ha ido detectando material genético del virus con continuidad en las aguas residuales de entrada de las EDAR analizadas, pudiéndose observar una tendencia similar a la detección de casos clínicos.

En la figura 3, desde mediados finales de julio las

muestras han resultado en su mayoría positivas en todas las EDAR analizadas. En concreto, en Arazuri y Tudela, las muestras son todas positivas desde agosto y en las demás depuradoras estudiadas ha habido alguna semana puntual donde no se ha detectado material genético, pero al cabo de las semanas el agua volvía a dar positivo.

En relación a las muestras de fango, no se ha detectado material genético del virus en ninguna de las muestras analizadas.

Semana muestreo		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	
Fecha		Mayo-junio					Julio					Agosto					Sept				Oct		
		25	1	8	15	22	29	6	13	20	27	3	10	17	24	31	7	14	21	28	6	13	
Arazuri	Entrada	Green	Yellow	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	
	Salida	Green	Green	Green	Green	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Green	Green	---	---	
Tudela	Entrada	Green	Green	Green	Yellow	Green	Green	Red	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	
	Salida	Green	Green	Green	Green	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	
Hospital Tudela	Colector	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Red	Yellow	Red	Red	Yellow	Red	---	---	---	---	---	---	---	---	
Estella	Entrada	Yellow	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Red	Green	Green	Yellow	Red	Red	Red	Yellow	Green	Red	Red	
	Salida	Green	Green	Green	Green	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Tafalla-Olite	Entrada	Green	Green	Green	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Red	Red	Red	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	
	Salida	Green	Green	Green	Green	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Artajona	Entrada	Green	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Salida secundario	Green	Green	Green	Green	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
	Salida	Green	Green	Green	Green	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Bera	Entrada	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Yellow	Green	Green	Red
Bajo Ega	Entrada	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Red	Yellow
Bajo Arga	Entrada	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Red	Red

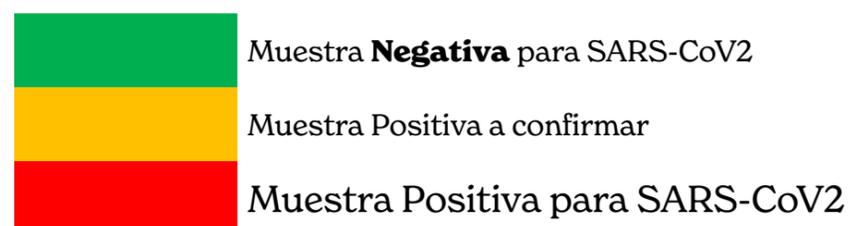


Figura 3: Presencia del material genético de SARS-CoV-2 a lo largo de las semanas de estudio.

# Evolución de la concentración de material genético entre agosto-octubre (semanas 11-21)

Los resultados de los análisis realizados por NASERTIC a partir de la semana 11 del estudio en las EDAR de Arazuri y Tudela se muestran en las figuras 4 y 5, respectivamente.

Tal y como se observa en las figuras 4 y 5, los resultados muestran desde agosto concentraciones de material genético en las muestras recogidas por encima de  $1 \cdot 10^4$  cg/l. Por otro lado, el aumento que se observa en la segunda quincena de agosto coincidió con un aumento de los casos clínicos confirmados.

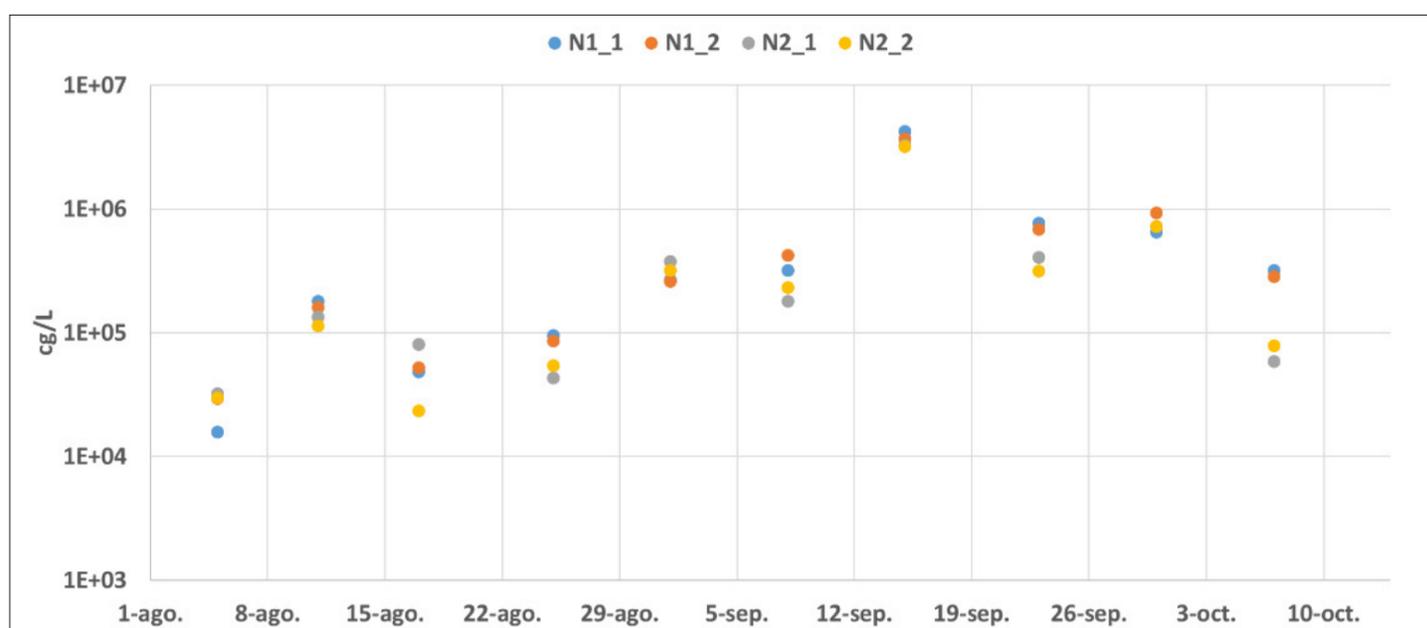


Figura 4: Resultados EDAR Arazuri agosto-octubre

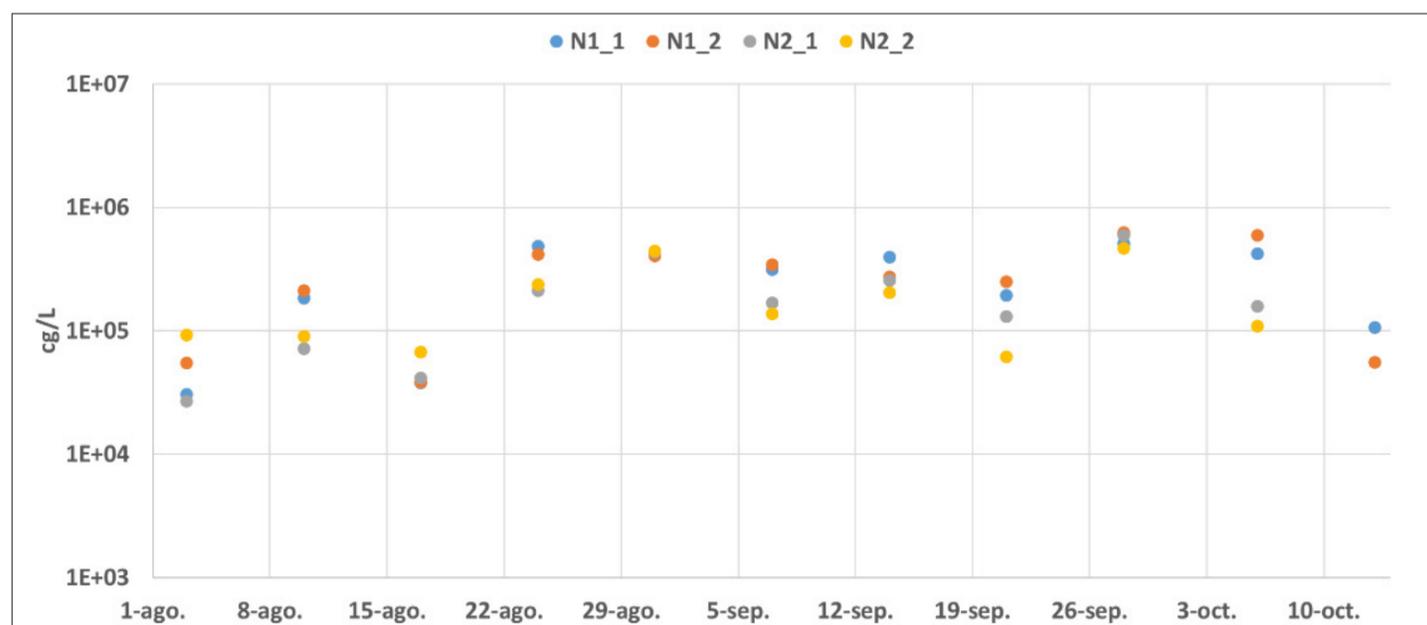


Figura 5: Resultados EDAR Tudela agosto-octubre

# Conclusiones y actuaciones futuras

Los resultados obtenidos en el estudio parecen indicar que la detección de material genético de SARS-CoV-2 en aguas residuales muestra que hay personas con el virus en las poblaciones cuyas aguas se depuran en esas instalaciones. Además, se ha observado la posibilidad de que haya una tendencia entre la evolución de la concentración en el agua residual y la evolución de la pandemia, aunque los expertos siguen analizando los resultados para sacar conclusiones significativas, por lo que podría resultar una herramienta útil y complementaria a los análisis clínicos. Por otro lado, en el caso de la depuradora de Tudela, no hay variación destacable en cuanto a concentración de origen fecal ni caudal por lo que no se ha tenido que modificar el horario de toma de muestras.

Esta línea de investigación sigue abierta en muchos ámbitos y sectores, donde se está intentando optimizar el método analítico (selección de las mejores dianas), así como la toma de muestras y la correlación que pueda existir entre la concentración detectada en la muestra y el número de personas infectadas. A nivel estatal, europeo e incluso la UNECE (United Nations Economic Commission for Europe) siguen de cerca los avances en este campo para determinar la utilidad que parecen tener estos controles como medida complementaria en la ayuda para la detección y control de la pandemia. Países como Bulgaria, Holanda e Italia han establecido una red en de detección y análisis para seguir investigando en esta vía (United Nations Economic Commission for Europe, 2020). En España, la red VATar sigue realizando los

análisis de la red y evaluando los resultados obtenidos en términos de tendencia y evolución de la concentración. Por otro lado, el Ministerio de Sanidad también ha hecho una recopilación masiva de datos para intentar establecer correlaciones, pautas y en cualquier caso ampliar el conocimiento existente en la temática.

En Navarra, desde el 20 de octubre se continúan tomando muestras en la EDAR de Tudela, dentro del proyecto de la red VATar y, además, se cogen semanalmente muestras de entrada y salida de la EDAR de Arazuri, por ser la depuradora que más agua residual gestiona en la CFN. Con el análisis y control en estas dos EDAR se abarca el agua residual de aproximadamente el 60% de la población navarra, y se espera seguir evaluando los resultados que se vayan obteniendo y abrir objetivos de investigación en esta temática.

## Agradecimientos

En todo momento se ha contado con la buena disposición y colaboración de la Mancomunidad Comarca de Pamplona (MCP) y la Mancomunidad de Montejurra para facilitar los muestreos en sus instalaciones (EDAR de Arazuri y EDAR de Estella).

# Bibliografía

Chen, N., Zhou, M., Dong, X., et al., 2020. “*Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study*”. *Lancet* 395, 507–513.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)

Gao, Q.Y., Chen, Y.X., Fang, J.Y., 2020. “*2019 novel coronavirus infection and gastrointestinal tract*”. *J. Dig. Dis.* 1 (2).

<https://doi.org/10.1111/1751-2980.12851>

Kitajima, M., Ahmed, W., Bibby, K. et al., 2020. “*SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs*”. *Sci. Total Environ.* 739:139076.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076>

López, A., Rodríguez-Chueca J., Mosteo R., Gómez J., Rubio E., Goñi, P., Ormad M.P., 2019. “*How does urban wastewater treatment affect the microbial quality of treated wastewater?*”. *Process saf environ* 130, 22-30.

<https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.07.016>

Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., Brouwer, A. 2020. “*Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage*”.

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.29.20045880v1>

Randazzo, W., Truchado, P., Cuevas-Ferrando, E. et al., 2020. “*SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area*”. *Water Res.* 181: 115942.

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942>

Randazzo, W., Truchado, P., Allende, A., Sánchez, G., 2020. “*Protocolo detección de sars-cov-2 en aguas residuales*”. Versión 1.10, septiembre 2020. Centro Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

Wu, Y., Guo, C., Tang, L., Hong, Z., Zhou, J., Dong, X., Yin, H., Xiao, Q., Tang, Y., Qu, X., Kuang, L., Fang, X., Mishra, N., Lu, J., Shan, H., Jiang, G., Huang, X., 2020. “*Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples*”. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 5, 434–435.

[https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2)

United Nations Economic Commission for Europe

<https://www.unece.org/index.php?id=55237> (acceso octubre 2020).



# PROYECTO COV-RED

Consortio de Aguas de Asturias.  
Empresa Municipal de Aguas de Gijón (EMA).  
Universidad de Oviedo.  
Magandea Engineers.

# Sistema robótico de alerta temprana SARS-CoV-2

El Consorcio de Aguas de Asturias (Cadasa), la Empresa Municipal de Aguas de Gijón (EMA), la Universidad de Oviedo y la ingeniería asturiana Magna Dea, S.L. participan en el proyecto COV- RED, cuyo objetivo es contribuir a la detección del SARS-CoV-2 mediante el análisis automatizado de aguas residuales en redes de saneamiento, capaz de lanzar alertas tempranas ante nuevos brotes, al vincular la presencia del virus con determinadas áreas de población.

Este sistema automatizado (incluyendo la interpretación y elaboración de los datos, así como su transmisión) de cuantificación de SARS-Cov-2 en aguas residuales será muy útil a la hora de poder anticipar en varias semanas la presencia de un nuevo rebrote de la enfermedad, ya que el virus es excretado por heces y orina en cantidades altas en las personas infectadas, incluyendo las asintomáticas. En estudios realizados se ha comprobado que el ARN del virus puede estar presente en las aguas fecales hasta 16 días antes de que se identifique el primer contagio, con lo que el sistema propuesto podría ser una buena manera de lanzar una alerta temprana ante nuevos brotes.

La principal innovación de este proyecto de investigación es que, por primera vez a nivel mundial, se está desarrollando un prototipo de un sistema totalmente automatizado (con robots y brazos robóticos encargados de realizar todas las etapas) para muestrear aguas residuales desde cualquier red

de saneamiento, proceder a la concentración de las posibles partículas virales de SARS-Cov-2 existentes en ellas, extraer el genoma ARN viral con alta pureza (sin la presencia de los inhibidores de PCR normalmente presentes en muestras ambientales), preparar las diferentes reacciones de cuantificación del virus por qRT-PCR, poner en marcha las mismas en el equipo termociclador (sin asistencia humana) y elaborar los datos de forma que, ante posibles detecciones positivas del virus en una o varias muestras, éstas se puedan comparar con las cuantificaciones previas, determinando si se está produciendo un nuevo brote local de COVID-19 y adscribirlo así a una zona geográfica concreta, según la estación de muestreo de aguas residuales de donde haya procedido esa muestra.

Se desarrollará una solución a través de la monitorización continua de la red de aguas residuales de una forma sectorizada, con el fin de identificar de forma temprana aquellas zonas del territorio -cuyas aguas se recogen en una determinada malla de la red de saneamiento-, en las que estén apareciendo muestras del virus SARS-Cov-2 liberadas por vía gastrointestinal de los nuevos pacientes infectados, asintomáticos o no, ya que el virus infecta, además del tejido pulmonar, otros tejidos como los del aparato digestivo.

COV-RED detecta y genera alarmas sin intervención humana, en tiempo real, 24x7 y, al estar instalado en la propia red de saneamiento, permite

# Objetivo

geoposicionar el origen del brote mediante tecnología GIS, acotando por barrios o áreas su origen. La velocidad de detección en este sistema y la delimitación geográfica y temporal del brote permiten tomar medidas de salud pública con suficiente antelación y minimizar las zonas de eventual confinamiento, lo que ayuda a reducir problemas sanitarios y económicos.

Los análisis iniciales utilizando muestras reales de aguas residuales congeladas de diversos puntos de la red de saneamiento, son muy esperanzadores con respecto a la utilidad del equipo para la detección temprana de futuros rebrotes y su geolocalización precisa., así como en el desarrollo de un novedoso método analítico, que permitirá reducir los tiempos de análisis que en la actualidad son largos y complejos.

Por otro lado, en la actualidad el análisis del SARS-CoV 2 en las aguas residuales requiere tomar las muestras de aguas residuales en las redes de saneamiento y su traslado a laboratorio para su análisis, de modo que este análisis no es inmediato sino que se demora en el tiempo y requiere de intervención de personal.

Aunque toda el agua residual acaba en una depuradora, gracias a la portabilidad de nuestros equipos tenemos la posibilidad de instalar los COV-RED antes de su llegada, lo que nos permite conocer su procedencia para así localizar más fácilmente el origen del brote del contagio.

El espíritu del proyecto COV-RED es el de perdurar como una fuente de información continua a tiempo real de la salud de la población, no únicamente para esta pandemia, para que así las autoridades sanitarias dispongan de una herramienta efectiva que permita detectar cambios en la circulación del virus en la población, e incluso pudiendo llegar a constituir un sistema de alerta temprana en caso de rebrotes de la COVID-19.

El agua residual es una fuente de información del estado de salud de la población. COV-RED se basa en la extracción del ARN del genoma viral, procedente de infectados incluso asintomáticos, lo que permite detectar SARS-CoV-2 u otro virus o bacteria, realizando todos los pasos sin intervención humana.

El objetivo en estos momentos es lograr que el coste total de fabricación e instalación del equipo sea el menor posible, para permitir dotar a los municipios de una red de equipos COV-RED que suministren información sanitaria de forma constante y cubran a toda su población.

# Equipo multidisciplinar

Se crearán bases de datos y patrones de incidencia sectorizados por barrios o zonas, obteniendo mapas de calor para las distintas incidencias.

Pretendemos lograr el marcado CE del equipo y que además de portátil, sea fácilmente transportable en un contenedor, de forma que su instalación responda a la idea de “plug and play” para cualquier instalación de saneamiento en la que se disponga de luz eléctrica y cobertura GPRS.

Creemos que, en un futuro próximo, el recibir información de las aguas residuales será tan útil y rutinaria como los análisis de sangre en los individuos, para la prevención de epidemias y pandemias.

El proyecto COV-RED integra la ingeniería robótica, la química analítica y la microbiología molecular para desarrollar un sistema capaz de detectar el SARS-CoV-2 en las aguas residuales, in situ, hasta 16 días antes de que las personas infectadas en una zona geográfica concreta empiecen a desarrollar los síntomas.

La epidemiología basada en el análisis de las aguas residuales tiene como fin aportar información objetiva y cuantitativa del estado de salud de una población, así como de sus factores de riesgo. El sistema analítico propio que hemos desarrollado mejora en rapidez y fiabilidad los protocolos previos, y además nos permite realizarlos en ambientes agresivos como son las infraestructuras de saneamiento.

Todo el proceso de cuantificación del virus en el proyecto COV-RED es ejecutado de forma automática, 24 horas al día 7 días a la semana por equipos robotizados que analizan y transmiten una alarma cuando detectan un positivo en una muestra, de la que, además, se conserva un determinado volumen, para realizar un contraanálisis.

# Método analítico

Hemos desarrollado un método analítico propio que mejora en rapidez y sensibilidad los procedimientos actuales para lograr una PCR cuantitativa, lo que nos permite realizar todo el proceso de forma totalmente automatizada, incluso en ambientes agresivos como son las infraestructuras de saneamiento, y disponer de resultados en 4 horas.

La muestra de agua residual, una vez recogida en el punto de monitorización a lo largo de la red de saneamiento, es concentrada 20 veces y se le añade un control interno para poder corroborar la eficiencia y fiabilidad del proceso. Este sistema automatizado es altamente eficiente, con muy poco consumo de energía, y logra reunir las posibles partículas virales presentes en un pequeño volumen de trabajo.

A continuación, se lleva a cabo un proceso robotizado de extracción del material genético mediante soluciones químicas que permite obtenerlo con alta pureza, eliminando las impurezas propias de las muestras ambientales que podrían inhibir el paso siguiente de PCR. Y con estos genes del virus altamente purificado se procede finalmente a una reacción de PCR cuantitativa, utilizando sondas fluorescentes, que nos permiten cuantificar con gran precisión el número de copias del virus presente en estas aguas.

Finalmente se realiza el proceso de PCR cuantitativa, que permite detectar las variaciones en el número de virus presentes a lo largo del tiempo en cada zona de muestreo analizada, determinando si se está produciendo un nuevo brote local de Covid-19 y adscribirlo a una zona geográfica concreta, según la localización de la estación de muestreo de aguas residuales de donde proceda la muestra. Al detectarse un positivo se realiza un contraanálisis con el segundo volumen de agua conservado en cada toma de muestra, y todos los datos obtenidos son transmitidos mediante red inalámbrica GPRS segura

Y todo esto en un intervalo de tiempo de menos de 4 horas.

Se ha validado un nuevo método analítico que optimiza la obtención de resultados de PCR cuantitativa, ahorrando tiempo de procesamiento y consumo de productos químicos con respecto a los métodos estándar publicados hasta el momento.

Paralelamente se ha desarrollado y testado el prototipo en condiciones de laboratorio y de forma inmediata será probado en instalaciones de saneamiento para optimizar su funcionamiento en condiciones reales de funcionamiento.

# Proyecto de tecnología humanitaria

El proyecto COV-RED, ha recibido, en el mes de diciembre de 2020, el premio Cruz Roja Tecnología Humanitaria “Mención Especial COVID-19” con los que se distinguen las mejores ideas, prototipos o soluciones completamente operativas que destacan por su carácter creativo e innovador en la aplicación de las nuevas tecnologías, en beneficio de acciones humanitarias y de colectivos desfavorecidos.

COV-RED va dirigido a toda la sociedad, ya que proporcionará a las autoridades sanitarias una herramienta más para poder actuar ante futuras pandemias. El equipo se concibe con un bajo coste y sin necesidad de disponer de personal técnico altamente cualificado, para que pueda ser utilizado en países en vías de desarrollo que no cuenten con los recursos ni con los medios tecnológicos para poder hacer frente a pandemias como la actual que estamos viviendo.

Entendemos que la información sanitaria contenida en las aguas residuales y su análisis será en un futuro cercano un método más para el control de la salud de la población, tan habitual como los análisis de sangre de los individuos. Esta nueva herramienta sanitaria no exigirá que el ciudadano se desplace a centros de salud, minimizando el riesgo de contagios de otras patologías, y con la tecnología COV-RED

será realizado de forma automática y estandarizada por equipos robotizados. Al estar basado el método analítico en la información genética del patógeno de interés en cada momento o en cada epidemia, es un sistema preventivo de aplicación universal más allá del actual escenario de SARS-CoV-2.

El espíritu del proyecto COV-RED es el de perdurar como una fuente de información continua a tiempo real de la salud de la población, no únicamente para esta pandemia, para que así las autoridades sanitarias dispongan de una herramienta más a la hora de tomar decisiones.

Creemos que es importante disponer de una herramienta de vigilancia ambiental rápida y masiva para los estudios epidemiológicos, permitiendo detectar cambios en la circulación del virus en la población, e incluso pudiendo llegar a constituir un sistema de alerta temprana en caso de rebrotes de COVID-19 en un área geográfica determinada.

Nuestra motivación es dar a conocer y poner a disposición de organismos humanitarios, autoridad sanitaria y administraciones, nuestra tecnología para su uso en la prevención, localización y control de pandemias, como la actual de COVID-19 y futuras.

# Objetivos de desarrollo sostenible

No podemos hacer una gestión de los servicios del agua sin tener en cuenta los objetivos de desarrollo sostenible. Mediante la innovación y el uso de tecnologías de vanguardia, debemos avanzar significativamente en nuestro compromiso con el desarrollo sostenible, poniendo un especial énfasis en el objetivo 3 (Salud y Bienestar), contribuyendo a la salud y bienestar de la sociedad beneficiada por el proyecto. El estudio de las aguas residuales nos permitirá contribuir al objetivo 6 (Agua limpia y saneamiento). Preservando el agua como fuente de vida, contribuiremos al objetivo 13 (Acción por el clima), mediante la lucha contra el cambio climático en la gestión del agua. Depurar las aguas y devolverlas al medio receptor en condiciones adecuadas para los ecosistemas y vida submarina nos permitirá contribuir a los objetivos 14 (Vida submarina) y 15 (Vida de ecosistemas terrestres), protegiendo y recuperando espacios naturales.

El equipo COV-RED nace con la premisa de un consumo mínimo de reactivos químicos y energía para su funcionamiento, minimizando la huella de carbono de todo el proceso al anular por completo los desplazamientos para la recogida de muestras y traslado a laboratorio.

El plan de sostenibilidad dentro de la gestión del ciclo integral del agua es un documento que aporta al desarrollo del conocimiento para el sector de agua y saneamiento desde el enfoque del saneamiento sostenible descentralizado, como una opción para mejorar las condiciones de salud de la sociedad.

Nuestro Plan de sostenibilidad describirá los componentes de gestión sostenible tales como: la generación de la demanda; tecnología y construcción; gestión operativa y social como base del sistema de saneamiento descentralizado. Abordará los aspectos del cierre de ciclo del saneamiento, desde una perspectiva integral considerando aspectos técnico-ambientales, sociales, económicos e institucionales.

# Equipo de personas

En el proyecto participa un equipo multidisciplinar de especialistas en tratamiento de aguas residuales, microbiólogos, ingenieros, expertos en robótica y telecomunicaciones. Personas que vienen desde distintos ámbitos como son la investigación, la administración pública o la empresa privada. Este hecho nos permite abordar el proyecto desde distintos enfoques y enriquecerlo con distintos puntos de vista, centrados en el objetivo final de disponer de un equipo que se pueda poner a disposición de la sociedad.

Por citar solo a los representantes de las 4 entidades que formamos COV-RED, mencionaremos a:

Profesor Felipe Lombó y Dr Javier Fernández, del Área de Microbiología de la Universidad de Oviedo, que aportan todo su conocimiento en la parte de análisis y biología molecular.

Dr. Ing. Francisco García y Dr. Ing. Santiago Solís, de la empresa Magna Dea, a través de sus departamentos de I+D e Hidráulica, que ha permitido el ensamblaje de las distintas unidades necesarias para el funcionamiento del equipo, que permita desde la toma de muestras del agua residual hasta tener un resultado de la cuantificación del virus.

Y por parte de las administraciones participantes en el proyecto, que han puesto todo el conocimiento sobre un tema tan relevante como es el agua: Ing. Pedro Menéndez y PhD Covadonga Díaz, de la Empresa Municipal de Aguas de Gijón y PhD Julio Pérez e Ing. Alberto Villa, del Consorcio de Aguas de Asturias.





# **SISTEMA DE ALERTA TEMPRANA PARA LA DETECCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DE SARS-COV-2 EN LA RED DE SANEAMIENTO DE EMASESA**

Pablo Rasero del Real  
Jefe de Control de Calidad de Vertidos  
EMASESA Metropolitana

# Antecedentes

Las aguas residuales son una matriz compleja en la que podemos encontrar un gran número de marcadores relacionados con la actividad humana, fundamentalmente químicos y biológicos. Debido a ello, las concentraciones de estos marcadores en las corrientes de agua residual, pueden proporcionar información cualitativa y/o cuantitativa acerca de la actividad de la población dentro de una determinada cuenca de saneamiento.

En las últimas décadas se han realizado publicaciones centradas en el uso de productos farmacéuticos, drogas ilícitas, tabaco y alcohol. Sin embargo, están surgiendo otras aplicaciones potenciales que pueden aportar información útil sobre la salud de la población, tales como la exposición a productos químicos industriales, enfermedades y resistencia a los antibióticos.

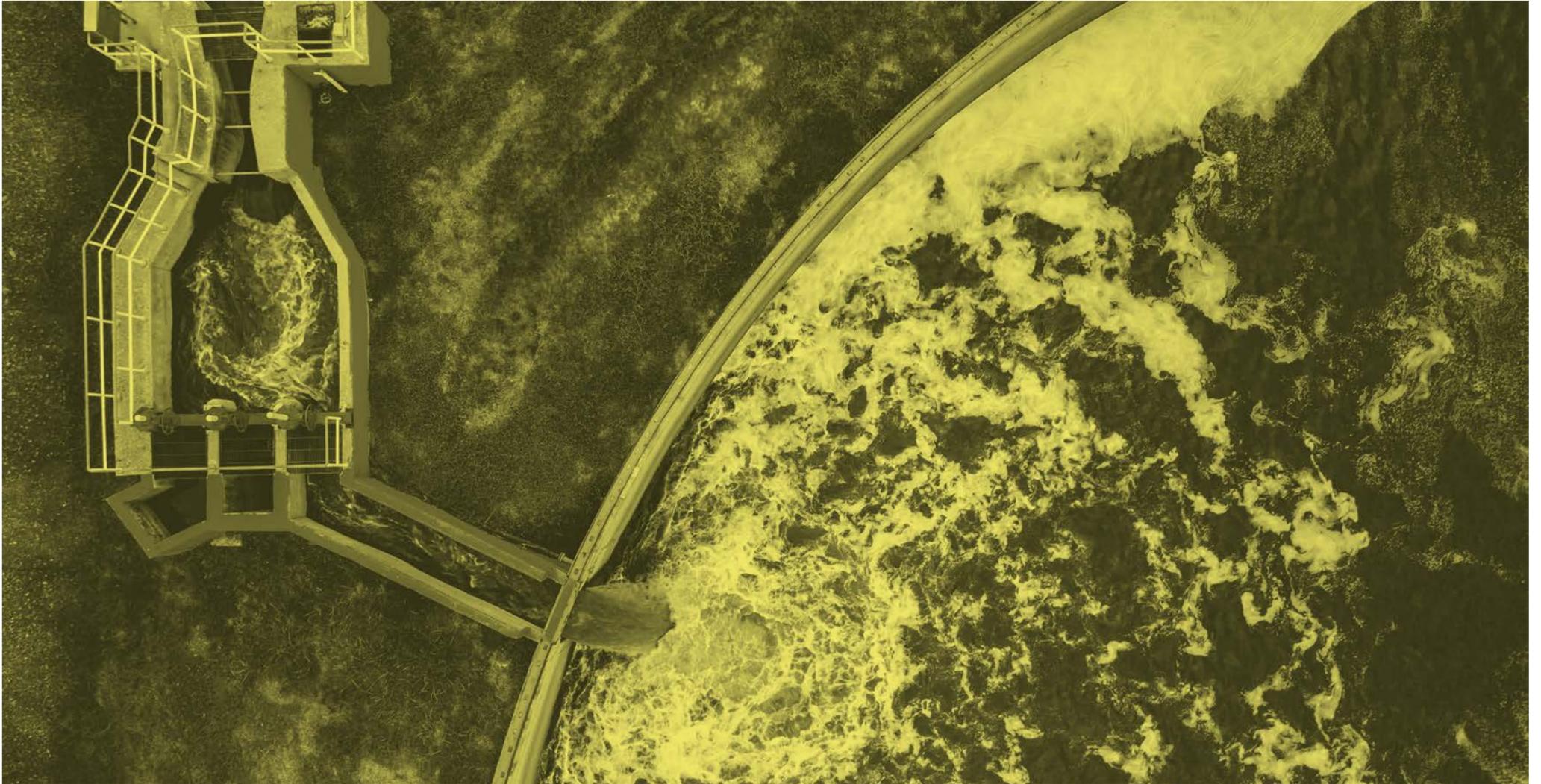
En este sentido, en los últimos 15 años, se ha venido avanzando en un campo relativamente nuevo, denominado WBE (wastewater-based-epidemiology), enfocado en la determinación de biomarcadores epidemiológicos en las aguas residuales. Estos grandes esfuerzos de investigación llevados a cabo en la última década, que han centrado su foco en este concepto de monitorización, están ayudando a disminuir el tiempo requerido para el desarrollo e implementación de soluciones específicas para SARS CoV 2.

Por otro lado, ha sido precisamente el gran impacto que ha tenido la emergencia sanitaria

provocada por la COVID-19 en nuestra sociedad, lo que ha hecho patente la importancia del rol de los estudios epidemiológicos enfocados en el agua residual, para la monitorización y el control de la expansión de la enfermedad.

Tras la primera confirmación de que el ARN del virus aparece en las heces de pacientes con COVID-19, los grupos de investigación en los Países Bajos, Australia, Estados Unidos, Francia, Italia, Austria y España entre otros, han establecido con éxito una relación entre la existencia del virus en el agua residual a la entrada de la planta de tratamiento de aguas residuales y la existencia de infección en la población. Así pues, la vigilancia de la existencia de SARS-CoV-2 en las aguas residuales, eventualmente combinada con la monitorización de los productos farmacéuticos utilizados en el tratamiento del COVID-19, probablemente se convierta en una herramienta valiosa y eficiente para monitorizar la circulación de virus en ciudades y núcleos de población. De este modo, esta novedosa sistemática finalmente podría convertirse en un sistema de alerta temprana para la detección posibles rebrotes del virus.

Para EMASESA esto no ha sido una primera toma de contacto, pues llevamos tiempo apostando por la puesta a punto de una metodología eficaz para la detección de virus. En este sentido, el Laboratorio de microbiología inició el año 2019 un proyecto para la Investigación y Control de Enterovirus por PCR



en el Sistema de Abastecimiento y Saneamiento de EMASESA. La determinación de SARS-CoV-2 se realiza por la misma técnica y con metodologías similares, hecho que facilita su estudio en nuestros laboratorios, sirviéndonos de experiencia para el estudio de otros virus en agua. Por otro lado, ha sido la extraordinaria situación de emergencia producida por la COVID 19 la que ha acelerado el desarrollo de la metodología para la identificación de puntos críticos en la red de saneamiento, y su monitorización, además de poner de manifiesto la necesidad de incorporar a sus laboratorios, técnicas específicas para la determinación del SARS-CoV-2 en las aguas residuales.

En mayo de 2020 en EMASESA existía el convencimiento de que la detección de SARS-CoV-2 en las aguas residuales iba a contribuir a ayudar a las Autoridades Sanitarias Locales y Provinciales a conocer la posible distribución de este virus en la población, mediante el control indirecto de las

personas asintomáticas, junto con un sistema de alerta y geolocalización de la diseminación del virus en la población.

Por esta razón, EMASESA se embarcó en un proyecto consistente en la determinación de SARS-CoV-2 en aguas residuales como Sistema de Alerta Temprana para el estudio epidemiológico de la pandemia, cuyo objetivo es estudiar la presencia del virus en muestras de agua residual tomadas en los puntos críticos comentados anteriormente, para que así sea posible relacionar los niveles de circulación del virus con la población afectada. De este modo, se conseguiría detectar de forma precoz la distribución del virus, y en este sentido la información obtenida podría servir de apoyo a las autoridades sanitarias de cara a establecer las medidas más adecuadas para la población, que permitan aplanar eventualmente la curva de contagios.

# Diseño del sistema de alerta temprana de EMASESA

Este aspecto tiene una especial relevancia debido a que va a influir de forma notable en los resultados obtenidos en el resto de actividades contempladas. Sobre todo, en los que permitan relacionar a posteriori las poblaciones afectadas y los resultados analíticos de SARS-CoV-2 existente en el agua residual.

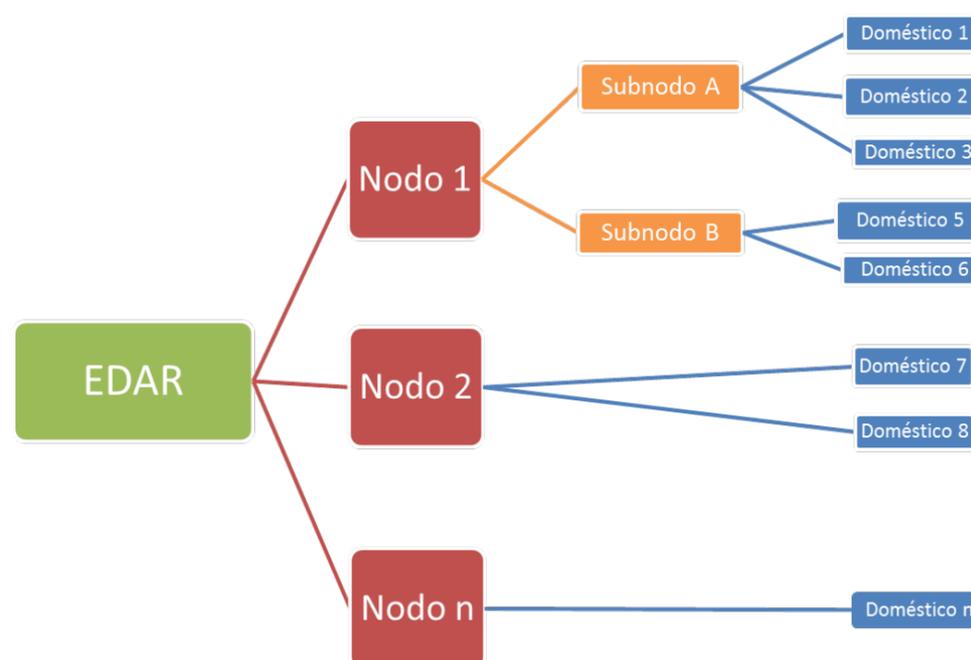
Entender el problema descrito anteriormente supone la necesidad de sectorizar las redes de saneamiento haciéndolas coincidir con sectores de población que puedan ser monitorizados por las autoridades sanitarias. En este sentido los trabajos a realizar requerirían un estudio pormenorizado de las redes en los que, por un lado, se compruebe la confluencia de los diferentes sectores a un colector común (sobre el que se realizará la toma de muestra), y por otro se seleccione el mejor punto que permita un fácil acceso para poder realizar la toma de muestra. Estos elementos singulares para la toma de muestra, se definen como nodos de la red para este proyecto.

También se ha contemplado la selección de sub-nodos, aguas arriba de los nodos comentados anteriormente, que, en el caso de una detección de concentración elevada de material genético, permita el despliegue de la red, para identificar con mayor resolución la población afectada.

Además de estos nodos establecidos en las poblaciones, se incluirán otros fuera de estas, localizados en las depuradoras de aguas residuales. Estos puntos tienen la particularidad de recibir todas

las aguas recogidas por las diferentes cuencas, por lo que permitirán validar la información agregada de los nodos anteriormente descritos.

Para disponer de un sistema de alerta temprana amplio y robusto se seleccionaron puntos de muestreo de la red de saneamiento a varios niveles de agregación, como se muestra en el siguiente esquema:



1. Las cinco grandes EDAR que gestiona EMASESA.
2. Puntos de muestreo en Nodos y subNodos,
3. Puntos exclusivamente domésticos y residenciales

# Metodología para la selección de los puntos de muestreo

## Puntos de muestreo Nodales y subNodales

Los Nodos son los grandes colectores emisarios afluentes de las EDAR. Cada Nodo recoge las aguas residuales de municipios o de varios distritos de la ciudad de Sevilla, por tanto entre todos recogen el 100% de las aguas residuales urbanas generadas (domésticas e industriales).

Para el sistema de alerta temprana se seleccionaron un total de diez (10) puntos nodales. Dada la magnitud de uno de los Nodos de la EDAR Copero, se consideró oportuno su desagregación en tres (3) subnodos, como viene detallado en la tabla adjunta.

EDAR	NODOS /	SUBNODO
Copero	A (ENTRADA COPERO COLECTOR SEVILLA)	A <sub>1</sub> (EMISARIO PUERTO)
		A <sub>2</sub> (EMISARIO TAMARGUILLO)
		A <sub>3</sub> (MONTEQUINTO-CONDEQUINTO)
	B (ENTRADA COPERO COLECTOS DOS HERMANAS)	
Ranilla	E1 (ENTRADA RANILLA COLECTOR SEVILLA)	
	E2 (ENTRADA SEVILLA COLECTOR ALCALÁ Y TORREBLANCA)	
Norte	N1 (ENTRADA SAN JERONIMO COLECTOR MACARENA)	
	N2 (ENTRADA SAN JERÓNIMO COLECTOR PINO MONTANO)	
	N3 (ENTRADA SAN JERÓNIMO COELCTOR RINCONADA)	
Tablada	T1 (TRIANA-LOS REMEDIOS-CAMAS)	
	T2 (San Juan Aznalfarache)	
Mairena-El viso	M (Mairena del Alcor)	

# Puntos de muestreo Domésticos y Residenciales

Para establecer el número de puntos de muestreo domésticos y su ubicación, se utilizó como criterio las personas censadas en cada uno de los once (11) distritos en los cuales se encuentra dividida administrativamente la ciudad de Sevilla.

Como fuente de información, se recurrió a los datos publicados del censo de población del año 2018 (Fuente: Instituto de Estadística de Andalucía. Consejería de Economía, Innovación y Ciencia).

Para determinar el número de muestras del estudio, en la ciudad de Sevilla, se establece como criterio de muestreo representativo de la población, el siguiente:

% Población	Nº de muestras
Inferior al 7%	1
Entre el 7-12%	2
Superior al 12%	3

En la tabla adjunta se presenta la población de cada uno de los distritos y el número de puntos de muestreo resultantes, y asignados atendiendo a este criterio.

Distrito	Población	%	nº puntos muestreos
Casco antiguo	58.693	8	2
Macarena	74.635	11	2
Nervión	51.450	7	1
Cerro-Amate	88.643	13	3
Sur	70.635	10	2
Triana	48.412	7	1
Norte	73.501	11	2
San Pablo - Santa Justa	60.561	9	2
Este	104.895	15	3
Bellavista - La Palmera	41.804	6	1
Los Remedios	25.447	4	1
<b>TOTAL</b>	<b>698.676</b>	<b>100,0</b>	<b>20</b>

Tabla 1: Población de los distritos de Sevilla y puntos de muestreo asociados.

Para el resto de poblaciones también se tuvo en consideración el número de habitantes censados, como se detalla en la siguiente tabla.

Término municipal	POBLACIÓN	nº puntos muestreo
Alcalá del Río	11.927	1
Alcalá de Guadaira	75.256	2
Camas	27.509	1
Coria del Río	30.657	1
Dos Hermanas	133.168	4
El Ronquillo	1.364	1
Mairena del Alcor	23.473	1
La Puebla del Río	11.879	1
La Rinconada	38.406	2
San Juan de Aznalfarache	21.416	1
<b>TOTAL</b>	<b>375.075</b>	<b>15</b>

Tabla 2: Puntos de muestreo domésticos para el resto de municipios estudiados.

Una vez definido el número de puntos de muestreo domésticos, se procedió a determinar la ubicación más adecuada para llevar a cabo los muestreos.

Utilizando el sistema de información geográfica de EMASESA se seleccionaron diversos puntos de muestreos sobre los planos de la ciudad de Sevilla y del resto de poblaciones servidas, tratando de que fueran característicos de la población residencial. Los criterios para la selección de los puntos de muestreo domésticos fueron los siguientes:

1. Cuenca representativa de la población residente en el distrito, cuanta mayor población mejor.
2. Ausencia de centros hospitalarios y actividades industriales en la cuenca de vertido, que pudiesen alterar los resultados obtenidos.
3. A efectos de ejecución de los trabajos, se ha considerado la facilidad para el acceso de vehículos

a los puntos de muestreo, disminuyendo los puntos de muestreo que requiriesen cortes totales en vías de tráfico.

4. Finalmente, atender la seguridad de los equipos de muestreo y la prevención de riesgos en el desarrollo de las actividades previstas.

Por tanto es importante dejar claro que los puntos de muestreo domésticos seleccionados no contienen a la totalidad de la población residente, sino una representación mayoritaria de la misma. En la siguiente tabla se expone la representatividad de los puntos de muestreo seleccionados sobre el total de la población censada.

Poblaciones	Habitantes reales	Estimación de habitantes muestreo	% población representada en el muestreo
Alcalá del Río	11.927	9.976	84
Alcalá del Guadaíara	75.256	58.583	78
Camas	27.509	11.124	40
Coria del Río	30.657	10.205	33
Dos Hermanas	133.168	102.231	77
El Ronquillo	1.364	1.364	100
Mairnea del Alcor	23.473	23.476	100
la Puebla del Río	11.879	11.337	95
La Rinconada	38.406	36.842	96
San Juan de Aznalfarache	21.416	16.144	75
	<b>375.055</b>	<b>281.279</b>	<b>75</b>

En total han sido 35 los puntos de muestreo domésticos seleccionados en la red de saneamiento. Con los criterios citados anteriormente, los puntos seleccionados ofrecen suficiente grado de dispersión de zonas muestreadas, evitando influencias de hábitos poblacionales, o laborales, que pudiesen condicionar la calidad de los vertidos. En la misma línea, se han tenido en cuenta en la selección, zonas tanto de alta, como de baja densidad de población en las cuencas de vertidos.

Usando estos criterios, los puntos de muestreo domésticos seleccionados para el sistema de alerta temprana se representan en el siguiente plano.

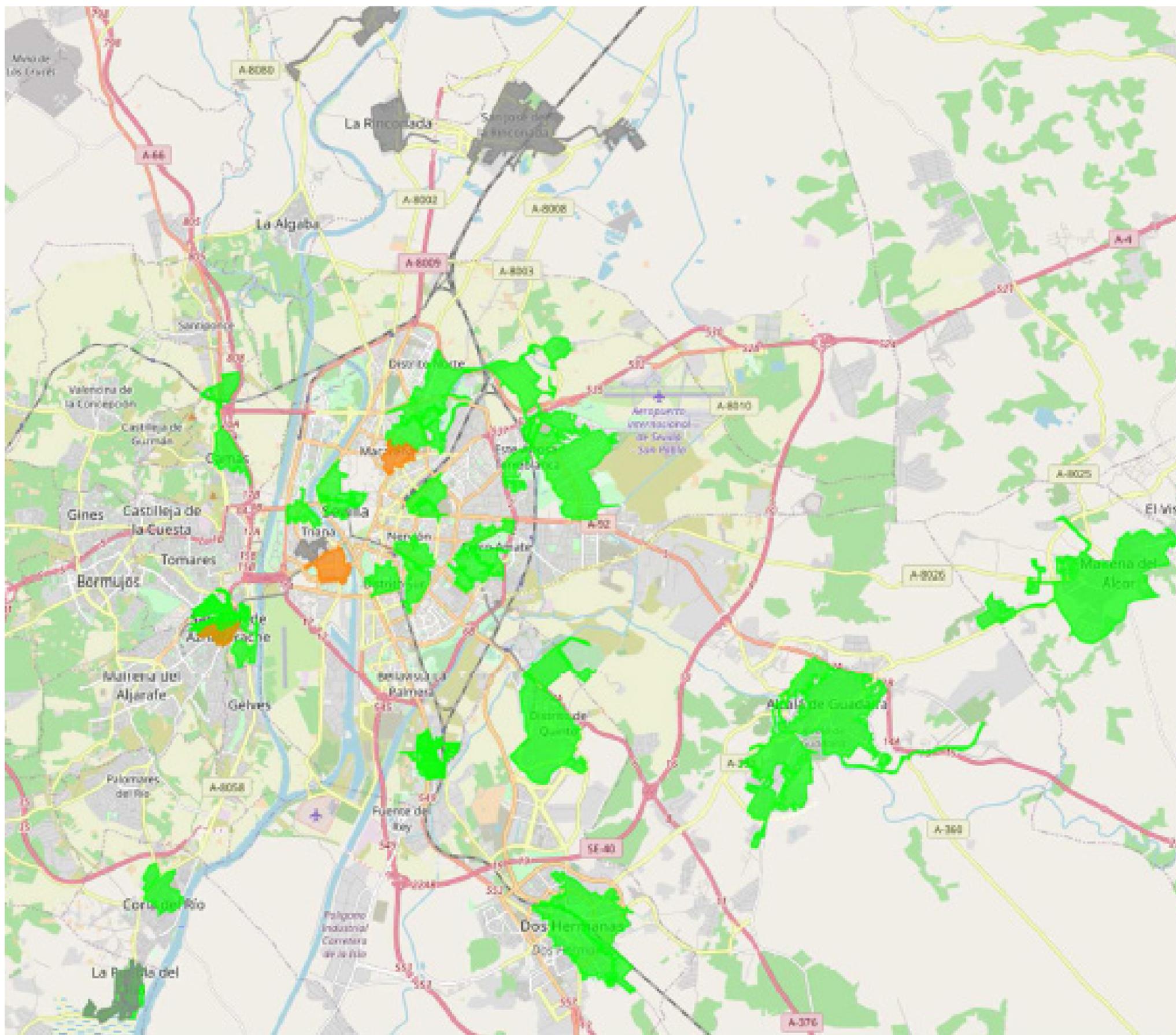


Ilustración 1: Plano con los puntos de muestreo domésticos.

# Muestreo y análisis

Tanto los trabajos de muestreo como el transporte y análisis de las muestras se efectuaron siguiendo las directrices del “*Protocolo para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales. VIARAL-CSIC*” desarrollado como consecuencia de la colaboración del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA) y del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS), ambos pertenecientes al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

En las EDAR el muestreo se planteó mediante el uso de equipos tomamuestras automáticos refrigerados, componiendo las 24 muestras horarias en función del tiempo.



Ilustración 2: Detalle de los muestreos en los puntos en EDAR.

La toma de muestras en los puntos nodales, subnodales y domésticos se efectuó mediante muestras simples, en horarios de mañana, coincidiendo con las horas de máxima actividad y caudal vertido en los domicilios.

Para la toma de muestras simples se emplearon botellas de plástico estériles, que fueron lastradas para su inmersión en el caudal circulante de aguas residuales, como se puede observar en las siguientes fotografías.



Ilustración 3: Detalle de los muestreos en los puntos domésticos.

El equipo de muestreo toma otra alícuota de la muestra para determinar las medidas in situ de pH, Conductividad y Temperatura y para el análisis de parámetros físico-químicos en laboratorio.



Ilustración 4. Detalle de las medidas in situ.

Todo el material de muestreo se desinfecta de forma sistemática después de cada toma para evitar cualquier interferencia entre muestras.



Ilustración 5: Desinfección del material de muestreo.

Las muestras refrigeradas son entregadas en el laboratorio central de EMASESA para la determinación de los parámetros Sólidos en suspensión, DQO y la determinación de SARS-CoV-2 mediante la técnica de RT-q-PCR, siguiendo el *Protocolo para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales* anteriormente descrito.

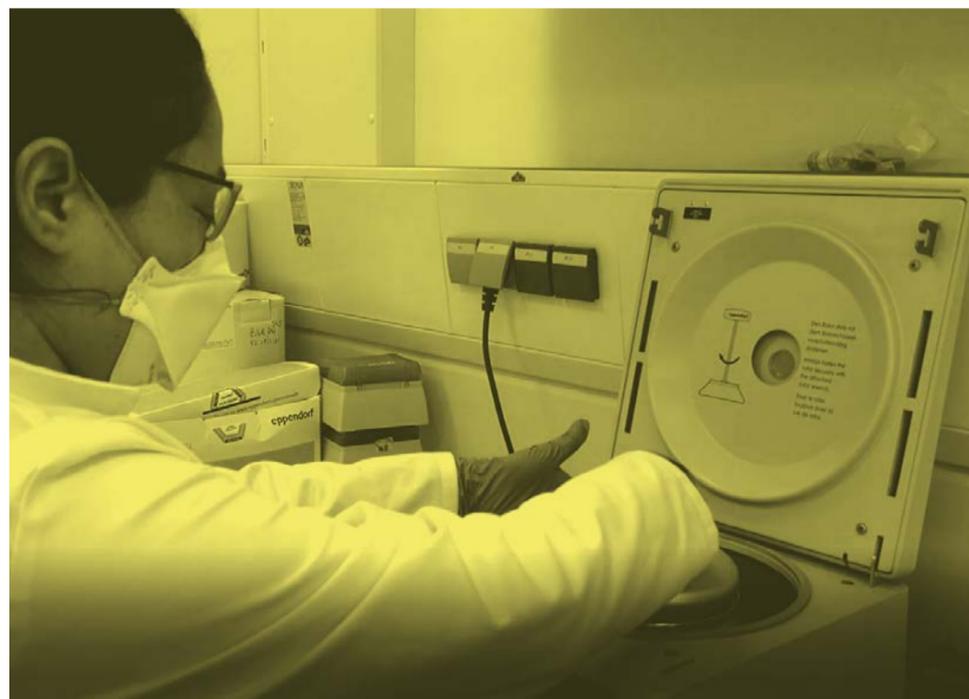


Ilustración 6: Análisis del SARS-CoV-2 mediante la técnica de RT-q-PCR.

EMASESA ha editado un video donde se detallan los trabajos de muestreo y análisis de SARS-CoV-2 en las redes de saneamiento, que puede visualizarse en el siguiente enlace:

<https://www.youtube.com/watch?v=oKF7qBVa10I>

# Protocolo de actuación

Desde la implantación del sistema de alerta temprana el protocolo de actuación se ha ido modificando de acuerdo a la evolución de la epidemia y a las directrices emanadas del *Comité técnico de seguimiento de la red de vigilancia de aguas residuales*, constituido por técnicos de EMASESA y de los organismos sanitarios competentes (Área de Salud del Ayto. de Sevilla y Consejería de Salud y Familias de la Junta de Andalucía).

Así durante más de un año de seguimiento de la concentración de SARS-CoV-2 en las redes de saneamiento de EMASESA, se pueden distinguir tres etapas con distintas intensidades de control:

## 1ª Fase (18 mayo - 18 julio 2020)

1. Análisis de las muestras congeladas de entrada y salida de EDAR de los meses de marzo y abril de 2020.
2. Control semanal de rutina a las entradas de las 5 EDAR, los 12 puntos Nodales/subNodales y los 3 puntos domésticos no asociados a las 5 EDAR.
3. En caso de resultado DETECTADO en el siguiente control se analizan los puntos domésticos asociados a ese Nodo/EDAR.
4. En caso de resultado DETECTADO de un punto doméstico en el siguiente control se muestrean sus colectores afluentes.
5. Informe semanal de resultados a los RESPONSABLES SANITARIOS.

## 2ª Fase (19 julio - 31 agosto 2020)

1. Dos controles semanales de rutina a los 12 puntos Nodales/subNodales y un control semanal de rutina a las entradas de las 5 EDAR y los 3 puntos domésticos no asociados a las EDAR.
2. En caso de resultado DETECTADO en el siguiente control se analizan los puntos domésticos asociados a ese Nodo/EDAR.
3. En caso de resultado DETECTADO de un punto doméstico en el siguiente control se controlan sus colectores afluentes.
4. Dos informes por semana de resultados a los RESPONSABLES SANITARIOS, los miércoles y los viernes.

## 3ª Fase (desde septiembre de 2020)

1. Control semanal de rutina: las entradas de las 5 EDAR, 9 puntos Nodales/subNodales y 19 puntos domésticos (11 representativos de las poblaciones servidas y 8 puntos domésticos de Sevilla capital).
2. Informe semanal de resultados a los RESPONSABLES SANITARIOS.

# Resultados

Desde el inicio de los trabajos se ha determinado el genoma vírico en más de 1.900 muestras de aguas residuales. Los resultados de todos estos análisis se vuelcan de manera inmediata en la plataforma MIOS, una aplicación creada por EMASESA que permite la consulta gráfica y georreferenciada de los mismos junto con otros datos de interés, como información de la cuenca, casos activos de COVID-19 en el distrito sanitario correspondiente o la pluviometría.

En las siguientes imágenes se muestra algunas pantallas de la aplicación:

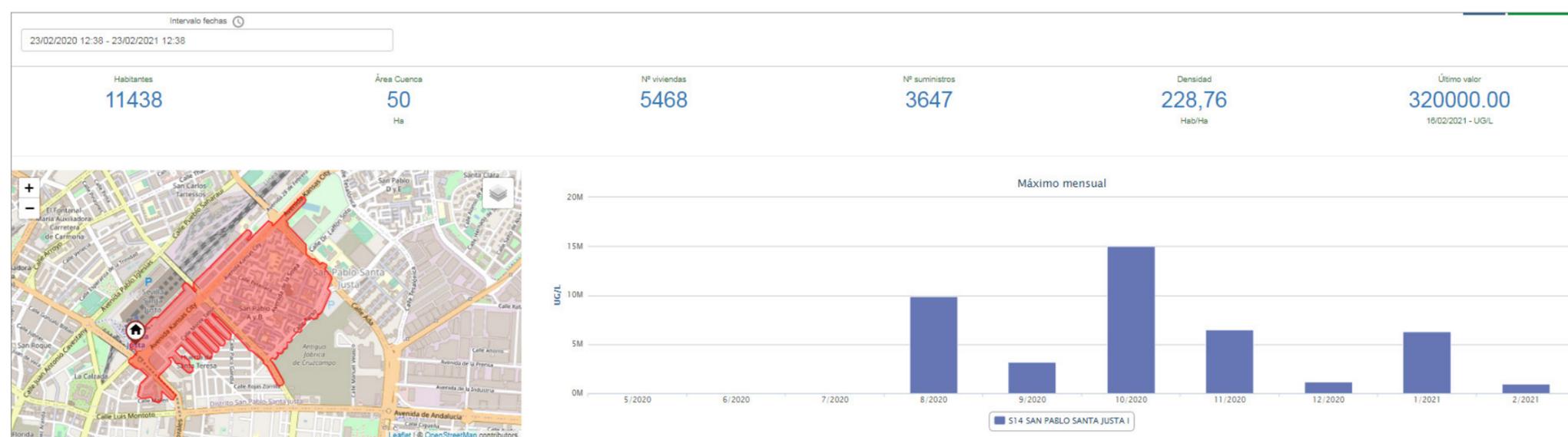


Ilustración 6: Aplicación MIOS.

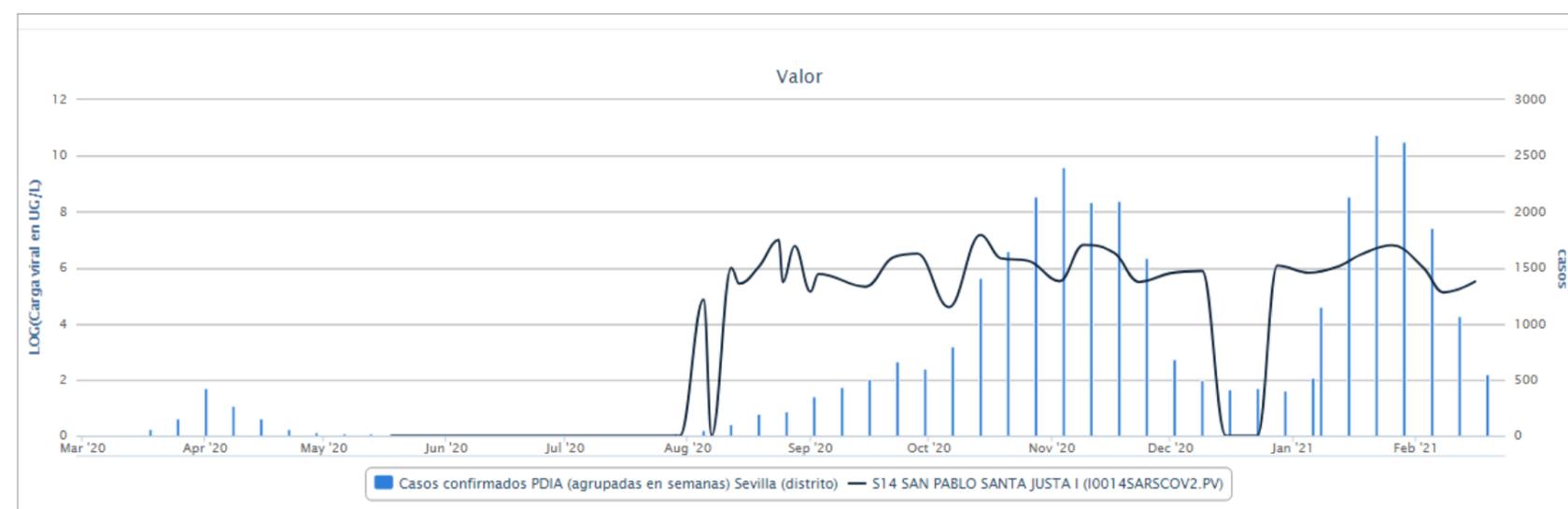
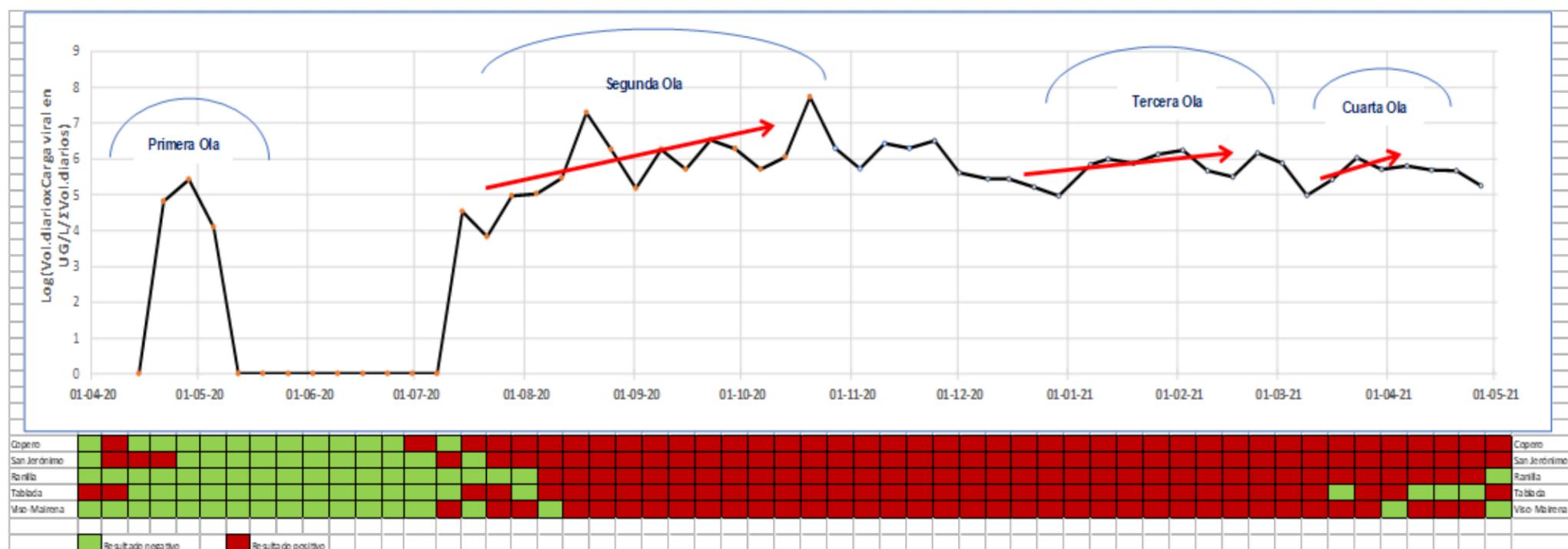


Ilustración 7: Aplicación MIOS.

Debido a la sensibilidad y confidencialidad de esta información, la aplicación MIOS solo es accesible a usuarios previamente registrados mediante un sistema de doble autenticación. Los responsables sanitarios pertenecientes al Comité técnico de seguimiento de la red de vigilancia de aguas residuales, disponen de acceso total a la plataforma.

Adicionalmente al acceso a los resultados analíticos, como se indicó en el punto anterior, desde EMASESA se remiten informes semanales al Comité técnico de seguimiento de la red de vigilancia de aguas residuales, en los que se evalúan los resultados analíticos de la semana y las tendencias.

Bajo estas líneas se incluye una gráfica de evolución de la carga vírica semanal recibida en las EDAR de EMASESA desde marzo de 2020, en que se observa la relación entre la carga viral y las tres olas de la pandemia.



# Proyecto en curso

El Comité técnico de seguimiento de la red de vigilancia de aguas residuales, constituido por técnicos de EMASESA y de los organismos sanitarios competentes, creó en septiembre de 2019 un subgrupo de trabajo para desarrollar un modelo predictivo de casos de Covid-19 a partir de valores de SARS-COV-2 en aguas residuales urbanas.

El Proyecto tiene como finalidad ser de utilidad al sistema de vigilancia epidemiológica de la Covid-19 de la Consejería de Salud y Familias, proporcionando datos que puedan apoyar la toma de decisiones en la gestión en Andalucía de la pandemia.

El objetivo es crear modelos predictivos que relacionen los datos de SARS-CoV-2 en las aguas residuales brutas de puntos domésticos de Sevilla con casos de Covid-19 en días sucesivos.

Para ello lo primero es definir “caso activo” como aquel que está incluido en la Red de Alerta del Servicio de Vigilancia Epidemiológica de Andalucía (SVEA) en un momento determinado. Así, hemos definido:

1. Entrada del caso en el SVEA: Día en el que un paciente declara haber comenzado a tener síntomas compatibles con la Covid-19 (y así queda registrado en la Red de Alerta) o, en su defecto, día en el que un paciente se hizo una prueba (PCR o de antígeno) positiva.
2. Salida del caso del SVEA: [entrada en el SVEA] + 10 días, día de hospitalización o día del exitus letalis (lo que ocurra antes).

Por tanto, los casos activos en un *día D* serán aquellos que cumplan la condición: (*día de entrada del caso en el SVEA*)  $\leq$  *día D*  $\leq$  (*día de salida del caso del SVEA*)



Ilustración 8: Recuento de casos (representados con un signo +)

## Datos de partida

Los datos utilizados para construir el modelo fueron los siguientes:

1. Los resultados del muestreo de aguas residuales en red de saneamiento de EMASESA: datos de la toma de muestra (fecha, hora, id), datos del agua residual (temperatura, pH, conductividad, DQO, sólidos en suspensión, unidades virales de SARS-Cov2), datos de la cuenca de vertido (código, habitantes y área). Muestreo en 8 puntos domésticos (sin influencia de centros sanitarios o industrias).
2. Los casos en Red de alerta (proporcionados por la Consejería de Salud).
3. Otros datos utilizados: población vulnerable en cada cuenca (porcentaje y categórica), temperatura media ambiental (AEMET), vacaciones.

## Resultados preliminares

El grupo de trabajo está ultimando un artículo científico sobre el modelo predictivo que relaciona los datos de SARS-CoV-2 en las aguas residuales de puntos domésticos con casos de Covid-19 en días sucesivos, que será publicado en revista especializada, si bien podemos adelantar que la predicción de este modelo, expresado en términos de tasa media de incidencia por 100.000 habitantes estimada a los 6 días, es una función de:

1. Unidades virales de SARS-CoV-2 en el agua residual.
2. Porcentaje de movilidad en Sevilla (comparado con la semana de referencia).
3. Temperatura media diaria (en grados centígrados).

# Conclusiones

Como conclusiones extraídas de más de un año de trabajos efectuados para la implantación de un Sistema de Alerta Temprana de la circulación del virus SARS-CoV-2 en las aguas residuales de EMASESA se pueden citar las siguientes:

1. Es básico conocer en profundidad la cuenca de cada punto de muestreo, su población servida, número de industrias y tipo conectadas al saneamiento, hospitales, y otros que puedan afectar a la concentración del genoma vírico.
2. Para que el sistema sea útil como detección temprana de casos de COVID-19 en la población servida es necesario mantener una alta vigilancia, que se puede concretar en una frecuencia de muestreos en cada punto de al menos dos veces por semana. Una vez que se produzca una propagación de la epidemia de COVID-19 en la población la frecuencia entre muestreos se puede ampliar.
3. Aunque pueda resultar una obviedad, es fundamental la agilidad en transmitir la información a las Autoridades Sanitarias, por lo que pueden ser útiles las aplicaciones informáticas tipo MIOS. En caso de no disponer de ellas se sugiere un informe de resultados y evolución con periodicidad semanal.
4. Al igual que se ha aplicado para la detección temprana de la circulación del virus SARS-CoV-2 en una población, el control y seguimiento de las aguas residuales urbanas permite implantar un sistema similar con otros patógenos de interés epidemiológico, como pueden ser el virus del Nilo o el de la gripe estacional.
5. Creemos que la Vigilancia y Control de Calidad de las Aguas Residuales de una Población es un buen termómetro para conocer la Salud de sus habitantes.
6. En EMASESA apostamos por la Sistematización de estos controles y su integración en los Planes de Seguridad del Saneamiento implantados como forma de gestión de riesgo en nuestros Sistemas General de Saneamiento.

# Fuentes documentales y bibliográficas

Censo de las población de Andalucía 2018. Instituto de Estadística de Andalucía. Consejería de Economía, Innovación y Ciencia.

<https://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia/>

Protocolo para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales. VIARAL-CSIC.

<https://www.miteco.gob.es/>

Mini reportaje sobre los trabajos de muestreo y análisis de SARS-CoV-2 en las redes de saneamiento de EMASESA.

<https://www.youtube.com/>



# MONITORIZACIÓN DE VIRUS Y COVID-19 EN AGUAS RESIDUALES

AQUAVALL EN COLABORACIÓN CON:

- MINISTERIO PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA Y EL RETO DEMOGRÁFICO.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO AGRARIO DE CASTILLA Y LEON
- INSITUTO DE PROCESOS SOSTENIBLES DE LA UNIVERSIDAD DE VALLADOLID.

# Resumen ejecutivo

Hay muchos más virus en la naturaleza de los que conocemos. La mayoría son inocuos para los humanos, pero pueden mutar y avanzar en su conocimiento es esencial.

Muchos de los virus que entran en contacto con las personas aparecen, al igual que otros patógenos, en las aguas residuales urbanas. Desde inicios de este siglo son numerosos los proyectos de investigación que tratan de localizar y monitorizar este tipo de organismos en los caudales de alcantarillados y depuradoras.

Cuando un virus aparece en las aguas residuales puede hacerlo como un organismo vivo con poder infectivo, bien desactivado o fragmentado. El SARS-COV-2 no es una excepción y precisamente por ello su concentración se puede utilizar como indicador para predecir la tendencia de las infecciones en la población, o para detectar la variante con mayor prevalencia; ambas informaciones de gran utilidad para los servicios asistenciales sanitarios.

En la situación actual son muy numerosos los servicios municipales de aguas que impulsan o colaboran en proyectos para investigar este nuevo virus en sus aguas residuales, y Aquavall no es una excepción.

La experiencia adquirida durante esta etapa permitirá definir procedimientos de monitorización efectiva de enfermedades de manera colectiva, acelerará los proyectos orientados a la vigilancia de contaminantes emergentes y nuevas amenazas a través de las aguas residuales; y posibilitará la generación y puesta a punto de las tecnologías necesarias para ello; modificando nuestras perspectivas de futuro en torno a los servicios de aguas.

# Presentación

Cualquier publicación sobre este tema corre el riesgo de quedar rápidamente obsoleta, dada la velocidad a la que está avanzando el conocimiento. No obstante, es necesario compartir lo aprendido hasta ahora para seguir progresando. Pero también hacerlo al menos en parte de una manera sencilla, que permita llegar a la mayor parte de la población, ya muy interesada en este tema.

Con esta publicación queremos resaltar que los servicios de aguas son esenciales y concienciar de la importancia sus procesos, y de su capacidad para hacer un diagnóstico social a través de ellos. Lo que para la ocasión se concreta en los análisis víricos de las aguas residuales y en la colaboración con las autoridades sanitarias en materia de salud pública.

Y en última instancia, sabemos que la mejor manera de sembrar innovación en la sociedad es difundir los resultados alcanzados -e incluso los fracasos-, localizando e interactuando con los interesados para incorporar sus experiencias y opiniones, creando foros de colaboración, intercambio y generación de conocimiento de los que surjan nuevos modelos, pilotos o prototipos que ayuden a enfocar lo aprendido para iniciar el siguiente ciclo de progreso. En la era post-COVID la capacidad de innovar será el principal rasgo diferenciador en las sociedades que mejor afronten los nuevos retos. Esta nueva entrega de la colección une ambos objetivos: tratar de ayudar a gestionar la crisis sanitaria y prepararnos para sus secuelas intentando promover las capacidades necesarias.

El texto se divide en varias partes. La primera más divulgativa ha sido redactada por Aquavall, el resto por personal investigador de los proyectos en los que ha colaborado la entidad.

# Introducción

La enfermedad que se desata tras una infección con el SARS-COV2 es algunas veces terrible. No solo porque en ocasiones sus consecuencias pueden llegar a ser fatales en lo personal, sino porque siempre son devastadoras en los aspectos familiares y sociales. La crisis actual no tiene precedentes en nuestra historia reciente para la mayor parte del mundo. Pero como en toda crisis, sus causas nos obligan a esforzarnos para superarla. Y esta no es menos.

Los servicios municipales de aguas han seguido operando pese a las dificultades en la cadena de suministro y a las bajas provocadas por la enfermedad entre su personal, adaptándose rápidamente cada vez que surgían nuevas las medidas sanitarias para tratar de controlar los riesgos. No solo han asegurado la continuidad del servicio, sino que han hecho todo lo posible para mantener las inversiones planificadas, más conscientes que nunca de su importancia para mantener la actividad económica. Y en medio de todas las complicaciones, la mayoría han hecho gala de su vocación de servicios públicos responsables y comprometidos, habilitando ayudas sociales pero también buscando la forma de aportar nuevas soluciones y tecnologías innovadoras desde su ámbito de conocimiento, para ayudar a controlar la situación y facilitar una rápida recuperación económica. Una de estas iniciativas es el análisis de aguas residuales para monitorizar la concentración del virus y así brindar un indicador de alerta temprana a los servicios socio sanitarios, colaborando en la puesta en marcha de un sistema para la alerta temprana.

**AQUAVALL**  
AYUNTAMIENTO DE VALLADOLID

*En las situaciones difíciles es donde hace falta una mano amiga. Una empresa pública tiene el deber de estar al lado de la ciudadanía en las circunstancias más adversas*

## Compromiso con las personas

### FONDO SOCIAL COVID-19

Aquavall ha aprobado un fondo social de 120.000 euros para contribuir a paliar las dificultades económicas de familias, autónomos y pymes como consecuencia de la crisis ocasionada por el COVID-19

MÁS INFORMACIÓN  
<http://aquavall.es/fondo-social-covid19>

#ESTE VIRUS LO PARAMOS UNIDOS

Ayuntamiento de Valladolid

#QUE NADIE SE QUEDE ATRAS

# Virus y aguas residuales

## Antecedentes

### Aguas residuales e higiene pública

A penas nos acordamos ya, pero desde mediados del siglo XIX se ha venido comprobando una reducción de las enfermedades infecciosas asociada a la introducción de los modernos sistemas de abastecimiento de agua y saneamiento urbanos. Aunque lamentablemente, se puede constatar aún hoy que en aquellas zonas de bajos ingresos -especialmente en los países desfavorecidos-, existe una mayor mortalidad asociada a las condiciones higiénicas deficientes.

Desde la antigüedad clásica la humanidad tiene clara la importancia en la disponibilidad de agua potable para garantizar la calidad de vida de una población. Tradicionalmente se intensifica su importancia cuando se van relacionando las llamadas enfermedades hídricas: cólera, tifus, gastroenteritis... Por ello se somete al agua a cada vez más numerosos controles físico químicos y microbiológicos, que aseguren su inocuidad y su idoneidad. Hasta llegar a nuestros días, en los que el agua del grifo es considerada en algunos lugares incluso de mejor calidad que la embotellada.

Con la extensión de la red de distribución de agua potable y el incremento del caudal disponible, pronto se descubrió que era un error asegurar solamente este servicio sin prever la evacuación de las aguas una vez utilizadas. Ya que en ese caso, estas se convertirían en un grave problema sanitario, inundando los viales como en los tiempos del “agua va”, y contaminando acuíferos, por mucho que algunos manasen con nombres como “Fuente de la Salud”, que para nada reflejaban aquellos riesgos.

Afortunadamente hoy ya no es así. El camino ha sido largo: los romanos ya conocían la necesidad de cloacas para mantener la salud colectiva. A partir del siglo XVI se adelanta que las enfermedades pueden producirse por la invasión de otros seres vivos invisibles, aunque hasta un siglo más tarde no se denominarían “animáculos”, una vez mejoradas las lentes de aumento y comprobada su existencia. Pero hubo que esperar a Pasteur para eliminar la creencia en la generación espontánea de estos seres. Y no fue hasta el último cuarto del siglo XIX el descubrimiento de las primeras bacterias: carbunco, cólera, tuberculosis. Finalmente en 1892, año de desastres, Ivanovski descubre los virus. Justo en esta época se está desarrollando el alcantarillado moderno de Valladolid y de otras muchas ciudades.

Las ciudades pasan de aprovechar los cauces fluviales (ríos, esguebas, arroyos, regatos o simples cárcavas) y de algunas cloacas cubiertas que dirigían los vertidos y las aguas de lluvia hacia ellos a construir redes de manera planificada. Valladolid en este sentido ya cuenta con referencias a la gestión de basuras y vertido de aguas residuales en unas Ordenanzas de fecha tan lejana como 1549. Pero no es hasta el desarrollo de las tesis higienistas y el estudio encargado en 1889 al ingeniero municipal Recaredo Uhagón cuando se realiza una planificación formal, que aún hoy sorprende. Así, los principales colectores aún en funcionamiento en el centro de Valladolid corresponden

a ese proyecto. Incluso previó la construcción de una estación depuradora de aguas residuales (en lo que hoy es la Rosaleda) con generación de biogás (para el suministro del alumbrado público) y aprovechamiento de los fangos extraídos (en la recuperación de los suelos degradados del Pinar de Antequera y como fuente de ingresos para la ciudad). Sin duda un ingeniero visionario que se adelantó muchos años a las necesidades de la ciudad y gracias a cuyo genio esta ha podido desarrollarse durante largo tiempo, ya que muchas de las zonas urbanas aparecidas en el siglo XX con la llegada de la industria del automóvil no son más que una extensión de sus colectores.

Si algún 'pero' cabe ponerle a D. Recaredo, puede ser la ubicación escogida para su tratamiento de las aguas residuales, y la simplicidad del proceso propuesto, mediante filtros biológicos naturales. Pero sus razones son comprensibles dada la extensión urbana y el aún incipiente conocimiento microbiológico en su época. Pese a todo, se adelanta al indicar que la dilución de vertidos en caudales mayores no es un método aceptable, y que la aireación mediante rompientes o la vaporización tampoco lo son, porque pueden provocar la transmisión de enfermedades. Incluso apunta que en caso de querer reutilizarse esas aguas debería evitarse su uso en el cultivo de verduras, y si se hiciera, lavarse bien con lejía diluida tras su recogida

## Los virus en las aguas residuales

Cuando finaliza la construcción de los principales colectores de Uhagón, en el año 1910, aún quedan sin soterrar algunos tramos del Esgueva en Valladolid. Pero ya en todo el mundo se tiene claro que los sistemas de recolección de aguas residuales permiten la evacuación segura de detritus y contaminantes arrastrados por el lavado de personas y enseres. A principios del siglo XX se constata que también pueden llevar una alta carga microbiana, fundamentalmente bacterias de tipo vibrium, clostridium, e.coli, enterococcus y streptococcus. Y lo que es más grave, esta carga puede convertirse en peligrosa en caso de que el usuario se encuentre infectado por algún patógeno capaz de transmitirse a través de ella. La actual normativa de calidad (RD 1620/2007) limita los contenidos microbiológicos en función del posterior destino del efluente, siendo más restrictiva en según el caso de reutilización. Y ya tenemos un nuevo reglamento europeo (RD2020/741) para aplicar los últimos conocimientos sanitarios y fomentar la circularidad del agua.

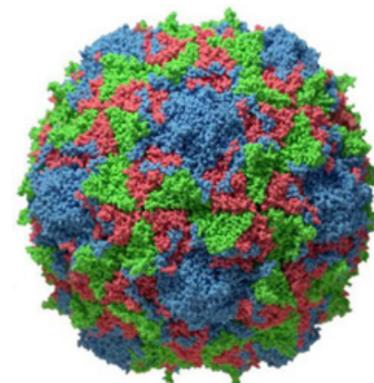
Aunque la normativa en las últimas décadas ha puesto el foco en la eliminación del riesgo microbiológico de las aguas residuales a través de los procesos de depuración, lo ha hecho sin incidir en identificar las especies en sí. Mayoritariamente se trata de las citadas bacterias, pero también pueden aparecer parásitos protozoarios (los más frecuentes son Giardia Lamblia y Cryptosporidium en niños) y virus entéricos, causantes de gastroenteritis y hepatitis. En los últimos tiempos, al relacionarse resistencia bacteriana con la presencia de antibióticos procedentes de uso

médico y ganadero en las aguas residuales, y de los procedentes de agricultura y acuicultura en el medio natural; la identificación de los patógenos está cobrando importancia creciente. Además, ciertos productos de uso cotidiano como el dentífrico o ciertas cremas llevan microplásticos, que se adhieren a los antibióticos facilitando su paso a través de las depuradoras y su transporte a largas distancias una vez en el medio receptor, donde vuelven a ser liberados.

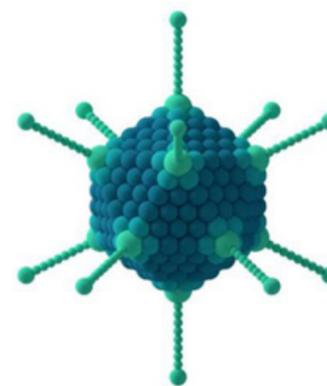
Antes de esta pandemia sabíamos que en la naturaleza hay muchos más virus de los pocos miles que conocemos, probablemente tantos como especies (1,8 millones). También sabíamos que estaban presentes en nuestros desechos. En la última década se están descubriendo muchos más, y muy interesantes porque podrían afectarnos, precisamente mirando en las aguas residuales, que son todo un rico ecosistema de biodiversidad... vírica.

El primero en detectarse en ellas fue en 1940 el enterovirus, responsable de infecciones del sistema nervioso central (meningitis, encefalitis) y cardiovascular (pericarditis, miocarditis...). Actualmente se han identificado más de 200 virus conocidos, pertenecientes a unas 26 familias diferentes. Los más abundantes son los que afectan precisamente a las bacterias, la especie más abundante en las aguas residuales, pero también los hay de los animales que habitan en las alcantarillas: roedores, blatódeos, arácnidos... y hasta de las plantas, principal fuente del alimento humano. Entre los más comunes que nos afectan aparecen enterovirus, adenovirus y norovirus; y entre ellos los que presentan mayor preponderancia en las aguas residuales son los que atacan a los aparatos digestivo y urinario. Pero hay muchos más cuya firma genética nos es aún desconocida, así como su influencia en el medio ambiente.

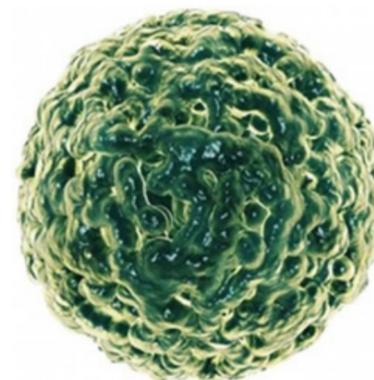
Porque incluso sabiendo el virus que buscamos, su identificación en los efluentes no es un proceso sencillo. Hasta la fecha su evaluación se ha realizado de forma general, a través del estudio de colifagos, unos virus bacterianos con una cubierta proteica similar a la cápside de los virus entéricos, y que presentan una resistencia similar a los tratamientos de depuración de aguas residuales. La detección de colifagos se basa en el cultivo de sus bacterias hospedadoras, y una posterior detección de zonas de lisis ó ruptura de sus membranas celulares, provocada por la infección vírica.



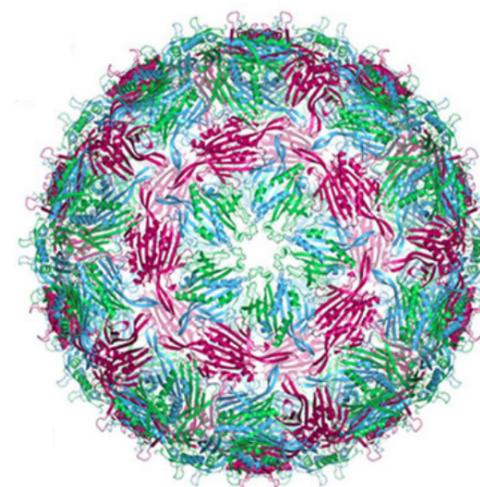
Enterovirus



Adenovirus



Norovirus



# El análisis de virus en aguas residuales

Como se ha dicho, el trabajo con virus en aguas residuales es complicado, tanto por la escasa carga presente en el enorme caudal de agua que trae el saneamiento a una depuradora, mezclando aguas domésticas, industriales, freáticas y en caso de lluvia escorrentías; como por su diversidad. Para facilitar su detección se debe incrementar la concentración. Existen diferentes métodos y combinaciones de ellos, unos más adecuados que otros según el tipo de virus: adsorción a hidroxiapatita y elución con fosfato sódico, filtración con resinas de intercambio iónico, adsorción con filtros de microporos...

En cierta forma y salvando las distancias, la adsorción es el mismo mecanismo de atracción y retención que utiliza el nuevo virus para acoplarse a la célula que infecta. En su caso mediante la famosa “llave” de proteína ACE2. Lógicamente para retenerlo en un proceso de concentración se suele usar un medio mucho más simple, la atracción eléctrica. Para concentrar ciertos virus de esta forma es necesario elevar el pH, ya que tienen cargas positivas y se requiere adherirlos a elementos o membranas con cargas negativas. Pero posteriormente hay que variarlo para lograr la elución: este proceso puede dañar los virus e impedir su detección. Además el concentrado obtenido debe centrifugarse y todo el proceso repetirse hasta alcanzar un residuo representativo mínimo pero suficiente. De aquí la complicación de trabajar con organismos tan frágiles -aunque no lo parezcan- y presentes en tan baja concentración en las aguas residuales, más allá de su análisis en sí.

Una vez concentrada la muestra, la cuantificación de virus en las aguas residuales se puede hacer de manera directa, mediante microscopía electrónica y posterior clasificación morfológica, ó de manera más sencilla, mediante epifluorescencia microscópica tras su unión a un fluorocromo que revelará su presencia.

También se puede hacer indirectamente, mediante infección de un cultivo celular, a través de los daños que provocan; o mediante hibridación con un oligonucleótido con marca radiactiva para una región específica del virus a monitorizar.

El procedimiento más común para detectar el coronavirus actualmente combina algunas de estas técnicas con la reacción en cadena de la polimerasa ó PCR, capaz de detectar secuencias de nucleótidos del genoma del virus -ADN-, aunque no diferencia si se encuentra activo o es infeccioso en una única prueba, lo que se solventa realizando una infección controlada en un cultivo. La sensibilidad de las PCR varía según el tipo de virus y el tiempo de análisis, y se lleva realizando en aguas desde al menos 1998. Pero no vale para el nuevo coronavirus, ya tiene un genoma de ARN, no de ADN. Por ello se introduce un paso previo y una complicación añadida: la sinterización de una molécula de ADN mediante transcriptasa inversa a partir del ARN original, para así poderle aplicar la reacción PCR.

Con todo, la complicación general en la manipulación de muestras y realización de los análisis víricos en aguas residuales, unida al reducido precio que se paga por los servicios de alcantarillado y depuración, provoca que en el mundo sean contadas las investigaciones que se interesan por la determinación de virus patógenos en los efluentes. Solo son algunas más las que se orientan a su identificación en las aguas regeneradas, luego del tratamiento terciario en la EDAR. Las conclusiones más interesantes de algunas de ellas realizadas antes de esta pandemia eran:

- Las aguas residuales son un entorno ideal para explorar la diversidad viral.
- Los virus de ARN (como el nuevo coronavirus) no pueden reproducirse fuera de su célula huésped, por lo que su presencia en aguas residuales procede de excreciones.

- Los patógenos excretados en las aguas residuales urbanas, virus incluidos, reflejan las infecciones que se han transmitido a la población.
- El análisis de una muestra de aguas residuales se comporta como una prueba agrupada.
- El tipo y la concentración de elementos víricos (virus activos, muertos o incluso fragmentados) en las aguas residuales depende del estado general de salud de la población, de la temperatura y de sus hábitos higiénicos. También de si algunos de ellos -atenuados- son usados en la vacunación.
- Hay muchos virus desconocidos presentes en las aguas residuales, la mayoría probablemente procedentes de plantas, que no afectan a los humanos.
- Entre los virus humanos, al menos los de hepatitis A y E, enterovirus, norovirus, poliovirus y adenovirus están circulando en las aguas residuales.
- Durante el programa mundial de erradicación de la poliomielitis de 2010-2012 de la OMS ya se demostró la utilidad del análisis de las aguas residuales para evaluar la circulación de la enfermedad entre la población y la eficacia de la inmunización. También se ha usado para predecir brotes de hepatitis A y de gastroenteritis asociada a norovirus. Aunque su uso es puntual y no sistemático.
- La reducción de los brotes de algunos virus como el de la hepatitis A tiene al menos tanto que ver con las campañas de vacunación como con la extensión de las EDARs a un mayor número de poblaciones, y con la intensificación y el perfeccionamiento de sus tratamientos.
- Los virus con envoltura (Ébola, influenza) no se asocian a la transmisión oral-fecal y por tanto a través de las aguas residuales en seres humanos debido a la debilidad de su envoltorio lipídico al entrar en una fase acuosa.
- Hay algunos virus (por ejemplo el poliovirus), que son mucho más resistentes al ácido hipocloroso que la bacteria E.coli, usada como indicador en los análisis microbiológicos, aunque suelen ser inocuos y no impiden el uso del indicador.
- En caso de un tratamiento de depuración deficiente el riesgo vírico asociado al vertido de esas aguas se maximiza. El riesgo es mucho mayor en las zonas marisqueras.

# Cuantificación del virus SARS COV-2

Desde hace algo más de un año el nuevo virus acaparó toda la atención del mundo, al principio distrayéndonos hasta de lo más obvio: que los servicios municipales de agua son esenciales y los principales responsables de mantener las condiciones sanitarias de la población, sin menoscabo de hospitales y UCIs. Debemos concienciar de la importancia sus procesos, y de su capacidad para hacer un diagnóstico social a través de ellos. Lo que para la ocasión se concreta en los análisis víricos de las aguas residuales.

Aunque los efectos más dañinos del SARS COV-2 se expresan en los pulmones, la COVID incluye también en muchos casos diarreas y otras afecciones gastrointestinales, lo que dio los primeros motivos para buscarlo en las heces de los pacientes. Después incluso se ha visto que la prevalencia del virus es mayor en los enterocitos que recubren el intestino, debido a la elevada presencia en estas células de la encima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) que utiliza el virus para infectar, mayor que en los neumocitos que tapizan los pulmones. Esto hace que el virus persista en el intestino del paciente hasta siete días después de superados los síntomas respiratorios, e incluso de dar negativas las muestras orofaríngeas. Así, el virus está presente tras la infección hasta 22 días en las heces, frente a los 18 días que permanece en las muestras respiratorias o los 16 días en las de suero. Aunque debido al paso por el propio organismo, la carga viral infectiva de las excreciones es menor que la encontrada en los aerosoles respiratorios.

Establecida claramente la presencia del coronavirus en la materia fecal y por tanto en las aguas residuales, el primer paso del análisis es la toma de una muestra. Se necesitan al menos 200 ml para

realizar una PCR, pero se toman 500ml para asegurar una cantidad suficiente. Así mismo, dado que se suele realizar una caracterización físico química sobre la muestra, suele tomarse más, hasta 2 litros, para poder determinar analíticamente otro tipo de parámetros que ayudarán a la interpretación de los datos, como amonio, pH, conductividad, DQO, etc. Todos ellos habituales en la caracterización de efluentes. Además, in situ se determina la temperatura de la corriente, pH, conductividad, temperatura ambiental y caudal instantáneo, consignándose en el acta de toma de muestra. Las muestras deben recogerse con las lógicas y habituales medidas sanitarias, en un punto que concentren las aguas residuales de la zona a monitorizar de manera homogénea y a una profundidad de 1/3 desde la lámina de agua. Así mismo, para que la muestra sea representativa, la hora de muestreo debe ser constante, e idealmente corresponder a la que presente mayor proporción de aguas domésticas fecales. Por tanto hay que tener en cuenta por tanto los tiempos de tránsito a través de las redes de alcantarillado hasta el punto de toma. En Aquavall, las muestras se toman los domingos a las 12:30h, considerando que la punta del vertido doméstico se produce a las 9:30h y de media son necesarias 2,5h para el transporte por la red.

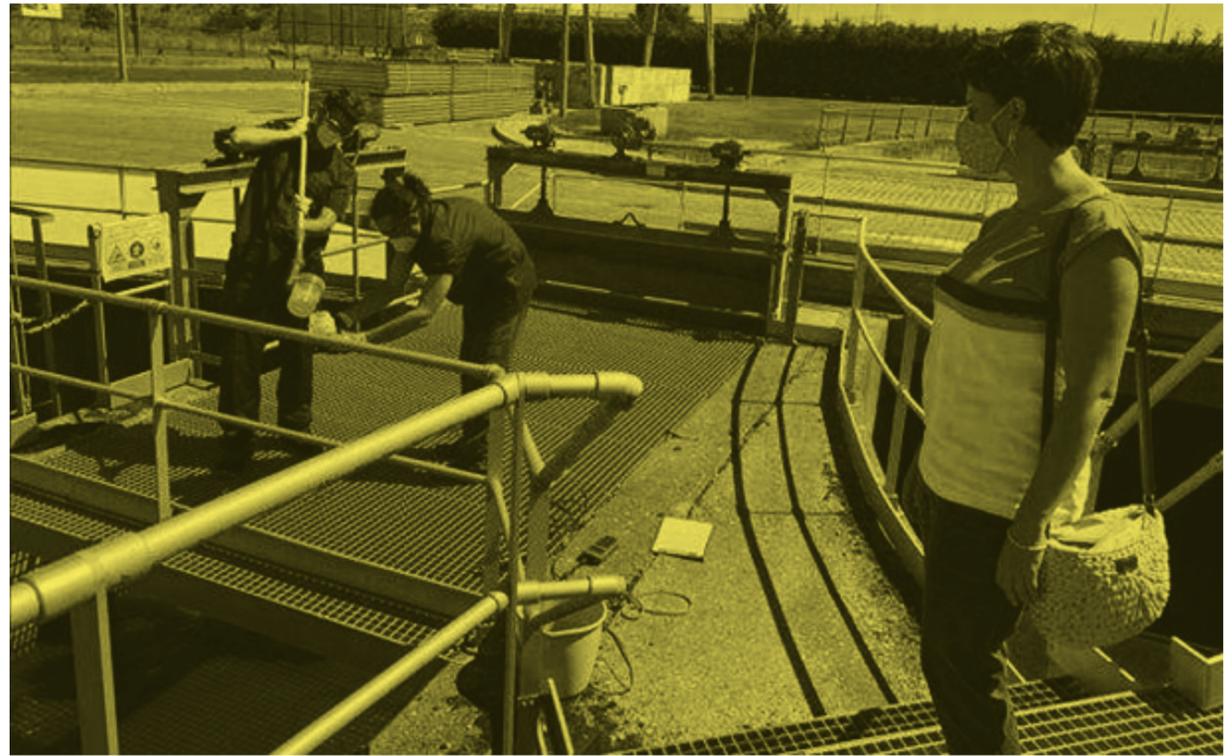
Una vez recogida la muestra esta debe conservarse a temperatura controlada, siempre inferior a 10°C, y trasladarse al laboratorio en el mínimo tiempo posible, nunca superior a 48h. Allí se registrará su llegada con las medidas de seguridad propias para muestras con riesgo biológico. Para comenzar la determinación del virus se tomarán y concentrarán unos 200ml iniciales de la muestra.

Generalmente mediante floculación con hidróxido de aluminio y precipitación por centrifugación, hasta un volumen de unos 2,5ml que contenga la mayor parte de microorganismos. Otros procesos de concentración pueden ser la ultrafiltración (usada en Países Bajos y USA), la ultra centrifugación (Francia), la extracción con membranas (Japón, Australia), precipitación con polietilenglicol (Italia).

Una vez concentrada la muestra, la identificación se realiza a través del material genético del virus, por medio de dianas o marcadores específicos del organismo buscado. Para ello se usan marcadores fluorescentes asociados a los iniciadores de las secciones diana de la secuencia genética. Además, para asegurar el funcionamiento de la prueba, la muestra se inocula con muestras de otros virus (mengovirus o coronavirus porcino) que también serán detectados. Habitualmente se utilizan hasta cuatro dianas para el nuevo coronavirus y dos para los inoculados.

Pero como se ha comentado, para detectar el SARS COV 2 en aguas residuales, al tratarse de un virus de RNA, es necesario usar una variante de las pruebas PCR, que incorpora una reacción transcriptasa inversa antes de someter la muestra a la reacción en cadena de la polimerasa. El nombre exacto de la prueba es RT-PCR. Una vez transformada la molécula de ARN en ADN, se somete a una serie de ciclos de amplificación mediante la adición de polimerasa (replica los ácidos nucleicos) y nucleótidos (forman nuevos ácidos nucleicos y aportan energía a las reacciones), hasta lograr la detección del virus con la sensibilidad buscada: a mayor número de ciclos, más capacidad para detectar menor concentración, y mayor tiempo de proceso.

Esto nos lleva a otra variante de las PCR. No debe confundirse la prueba RT-PCR con la qPCR (quickPCR)



cuando a veces se la llama rtPCR (real time PCR), que como su nombre indica es una PCR cuantitativa que puede hacerse más rápidamente, al cuantificar la amplificación de la molécula buscada hasta el primer ciclo de amplificación que se detecta, sin esperar a recontar solo al final de todos los ciclos. Esto lo hace con reactivos fluorescentes (fluorocromos) y un termociclador para medir la fluorescencia entre ciclos.

Debido a la enorme dilución del material vírico en las aguas residuales, para detectarlo es necesario realizar un gran número de reacciones en cadena de la polimerasa, mucho mayor que en las muestras de fluidos corporales. Haciendo un inciso, hay una relación directa entre el tiempo que se tarda en realizar la prueba y la concentración de la muestra, de ahí la razón de ciertos test más incómodos para el paciente, como el nasofaríngeo o últimamente el anal, frente a otros de sangre, saliva o incluso cerumen. En el caso de las aguas residuales se llega a duplicaciones de orden 40 (240), mientras que en muestras corporales habitualmente se trabaja con órdenes de duplicación

entre 7 y 30 (27 y 230). Teniendo en cuenta que son cantidades exponenciales, la diferencia es astronómica. Por ello, para simplificar el proceso, se puede hacer la técnica rápida sobre la RT-PCR necesaria para detectar el SARS-COV- 2, deteniendo el proceso de duplicación cuando se alcanza una cantidad determinada de virus. Esta RT-qPCR se aplica en pruebas cualitativas sobre muestras humanas: para determinar si un individuo está infectado basta con alcanzar una concentración mínima, aunque no así para determinar su grado de infectabilidad y pronosticar su evolución, lo que requiere una prueba cuantitativa RT-PCR. Al igual que sucede en las aguas residuales: para poder comparar la evolución en una población es necesario realizar un número fijo de duplicaciones.

Las mediciones en aguas residuales aportan una información adicional muy valiosa para determinar la circulación del virus en la población, ya que puede haber una gran cantidad de pacientes asintomáticos que no son detectados si no se realizan cribados masivos. Aunque hay que hacer una salvedad: cuando se habla de cuantificación de un virus mediante PCR en aguas residuales se usa una escala logarítmica que precisa el orden de magnitud de la cuantificación, o dicho de otra forma: esta técnica no indica un número exacto de infectados, solo lo aproxima. Eso sí, resulta suficiente para la monitorización. Como el uso de logaritmos no es algo habitual, para evitar suspicacias derivadas del uso de esa escala, en la mayor parte de países -como es el caso de España-, los resultados oficiales solo indican de manera sucinta las tendencias de la concentración de virus detectada: descendente, estable o ascendente. No obstante, investigadores del CSIRO Land & Water (Australia) sí han publicado que encuentran cierta correlación razonable -ya numérica, no de orden de magnitud- entre la inferencia estadística del número de personas contagiadas estimado por las clínicas y los resultados del análisis PCR de aguas residuales. A pesar

de la incertidumbre sobre la concentración en cada individuo y sus tasas de excreción.

Por otra parte, una detección simple del virus con una prueba RT-qPCR en las aguas residuales es también interesante para determinar la aparición de la pandemia. A pesar de ser rápida, el proceso dura unas 4 o 5 horas en total. Además, con un método de amplificación tan sensible hay que tener cuidado con la contaminación de las muestras y el aumento del riesgo con cada nueva manipulación. Así, se descubrió su presencia del virus en muestras almacenadas de agua de ciudades de Países Bajos semanas antes de detectar oficialmente el primer infectado, o incluso al menos un mes antes, como es el caso de Murcia, Valencia o Barcelona. Donde mayores resultados positivos adelantados hasta la fecha ha tenido esta aplicación ha sido en las muestras almacenadas del control de vertidos en aeropuertos. En teoría, con la metodología actual se podría detectar un individuo infectado entre las aguas residuales de una población entre 100 y 2.000.000 de personas. Porque mediante esta técnica, si está, lo que se busca se encuentra.

Otra cosa es que esas trazas de virus sean capaces de reproducirse y seguir infectando. En principio, debido a que el nuevo coronavirus tiene una evolvente, se cree que al disolverse en una fase acuosa esta se vería dañada, provocando la pérdida de infectividad del virus. Aunque esto no es válido para todos los virus e incluso pudiera evolucionar en el futuro.



Hasta la fecha y afortunadamente en los ensayos realizados en muestras de aguas residuales que resultaron positivas en el ARN viral, tras ser sometidas al proceso de depuración y un cultivo, han resultado negativas para el virus. En otras palabras, las aguas residuales depuradas no son un vector de transmisión del virus. No tanto así en las aguas sin tratar, en las que sí podría aparecer completo al menos puntualmente. Aunque por el momento los estudios no han logrado aislar viriones infecciosos, ni existe evidencia de su presencia, podría ser debido a la dificultad de manejo para mantener intactos los virus con envoltura. En cualquier caso, una posible presencia en las aguas sin tratar exige la máxima prudencia, especialmente en países y zonas desfavorecidas o con sistemas de abastecimiento de agua y saneamiento deficitarios, pero también en los puntos de los alcantarillados modernos donde su tránsito pueda dar lugar a nebulización.

Recientemente, este mismo mes de febrero de 2021 se ha publicado un estudio realizado en el departamento de alcantarillado de Porto Alegre, Brasil, que estima una concentración de virus viable entre 0,04 a 5,23 PFU mL<sup>-1</sup> (Plaque-Forming Unit) en las aguas que entran en su EDAR, aunque sus conclusiones sobre el riesgo de infectividad real no son aún precisas. Sí lo son en el caso del primer SARS COV parecido en 2003, para el que en 2005 se determinó que podría permanecer infeccioso en el sistema de alcantarillado entre 2 días a 20°C de temperatura y 14 días a 4°C; o para los virus de la gastroenteritis transmisible (TGEV) y la hepatitis de ratón (MHV), cuyo reporte se añadió en 2009, también con gran influencia de la temperatura.

Para determinar el riesgo de una infección de SAR SCOV 2 por exposición a aguas residuales contaminadas se puede realizar una evaluación cuantitativa del riesgo microbiano ó QMRA (Quantitative microbial risk assessment), que se viene utilizando desde hace casi 40 años para analizar los riesgos asociados y se aplica con bioaerosoles ó al agua regenerada. En este caso aún no hay información precisa sobre la dosis necesaria para que se produzca la infección, y por tanto no se puede determinar el riesgo tolerable ni existen límites de exposición ocupacional (OEL) para agentes microbianos definidos. No obstante algunos estudios apuntan que sería posible que, en las fases de crecimiento más agresivo de las olas de contagio y durante sus picos extremos, los trabajadores del alcantarillado o la EDAR pudieran verse expuestos a un virus con capacidad infectiva en concentración suficiente durante el transcurso de un año. Aunque las olas no duran tanto tiempo y por ahora se trata más de una teoría que de una aseveración, esto que puede parecer poco para otros colectivos como el de los profesionales sanitarios, debe sin embargo ser suficiente para extremar las precauciones con los protocolos y equipos de protección utilizados en las EDAR, especialmente en aquellas con instalaciones más antiguas o menos eficientes. Algo que por otra parte, la mayor parte de los servicios ya vienen haciendo desde siempre y con la máxima diligencia: como recoge la NTP 473 del Instituto Nacional de Higiene en su primera tabla: los agentes biológicos en las aguas residuales son algo con lo que lidiar cotidianamente al tratarlas.

# Iniciativas de monitorización en aguas residuales

El sector del agua es lento a la hora de incorporar tecnología. Tener el producto vendido, y a un precio muy limitado, no ayuda. No obstante, la pandemia mundial ha alterado también la dinámica del sector, y son muchas las poblaciones que participan en estudios para analizar el coronavirus en sus efluentes.

En Europa fue Milán la primera ciudad en detectar el SARS-COV-2 en sus aguas residuales, en febrero de 2020, aunque posteriormente el Instituto Superior de Salud indicó que en las muestras almacenadas de Turín ya aparecía desde diciembre de 2019. Poco después, el aeropuerto de Amsterdam-Schiphol lo detectó tan solo cuatro días después de detectarse los primeros casos en Países Bajos el 27 de febrero.

El primer estudio completo fue publicado por Medema et al., investigador del KWR Water Research Institute a finales de mayo de 2020, con la evolución de la concentración del virus en las aguas residuales de las ciudades de Amsterdam, Amersfoort, Apeldoorn, Den Haag, Tilburg y Utrecht en Países Bajos entre el 27 de febrero y el 28 de mayo.

En España los primeros estudios se realizaron en varias poblaciones de la cuenca mediterránea, desde Cataluña a Murcia, a partir de marzo de 2020, aprovechando que muchos de sus grandes municipios tenían experiencias previas en la detección de contaminantes emergentes y patógenos en sus aguas residuales. Algunos han incluido también la detección del virus en los lodos generados durante la depuración.

Actualmente, en nuestro país prácticamente todas las grandes empresas gestoras tienen iniciativas propias o participan en consorcios para desarrollar sistemas de monitorización, independientemente de su carácter público o privado. No obstante, cuando se trata de privadas los análisis suelen aparecer repartidos entre las diversas EDARs repartidas por el territorio de sus unidades organizativas; mientras que cuando se trata de entidades públicas, normalmente su ámbito geográfico se encuentra más concentrado y por ello sus puntos de muestreo se circunscriben a diferentes cuencas vertientes de una misma zona. El mayor exponente europeo de esta concentración sería el Canal de Isabel II, que ha trabajado al menos con 290 ubicaciones, entre redes de alcantarillado y estaciones depuradoras de la Comunidad de Madrid.

Para tratar de ordenar y coordinar todas estas iniciativas, el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO), impulsó el proyecto Vatar-Covid19 (Vigilancia y Alerta Temprana en Aguas Residuales), que ha tejido una red de puntos (30 depuradoras y 10 zonas de baño) que abarcan las zonas representativas de los diferentes climas y tipos de población, con mayor incidencia previa; además de integrar otros proyectos en ejecución de Comunidades Autónomas y Entidades Locales.



Este proyecto además, para evitar diferencias en los resultados analíticos homogeniza los métodos de muestreo, envío, recepción, concentración y extracción de muestras, estableciendo el protocolo VIARAL-CSIC, desarrollado por el Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA) y el Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS), organismos pertenecientes al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Los análisis se concentran en los laboratorios de los organismos redactores del protocolo (IATA y CEBAS), además de las universidades de Santiago de Compostela y Barcelona. Así mismo, el proyecto VATAR incorpora los criterios de interpretación de resultados y la cuantificación de las muestras positivas.

La identificación del SARS COV 2 mediante PCR se realiza amplificando ciertas regiones de su material genético que son específicas de él y por tanto actúan como dianas o marcadores. En el proyecto VATAR las utilizadas para determinarlo son al menos tres: IP4, E y al menos un marcador de nucleocápside:

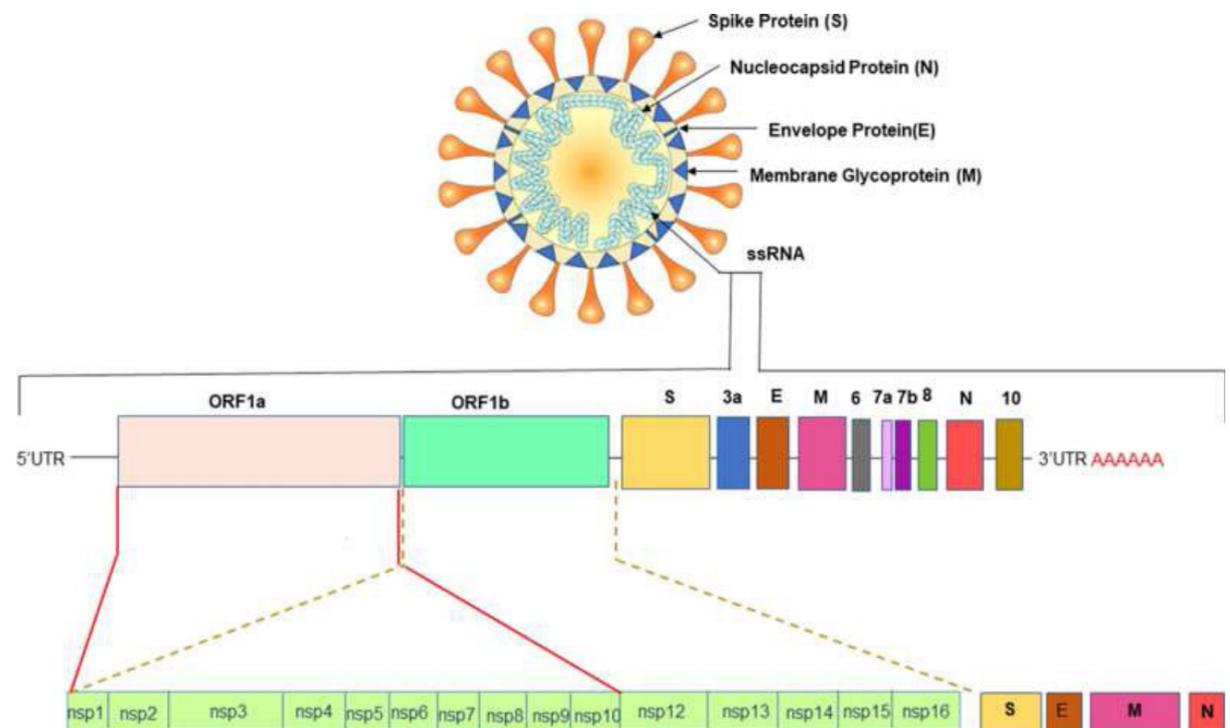
- IP4: secuencia que codifica la proteína ARN-polimerasa dependiente de ARN (RdRp), que se cuantifica a partir de protocolos basados en los desarrollados por el Instituto Pasteur.
- E: secuencia que codifica la proteína de la envoltura del virus, cuantificada a partir de protocolos propuestos por Corman et al.
- N1 y N2: secuencias que codifican la nucleocápside del virus, de acuerdo con el protocolo de cuantificación propuesto por el CDC de USA.

Aquavall colabora en el proyecto VATAR desde su inicio, dentro del marco general de investigación en colaboración con la Junta y el Ministerio, con muestras semanales tomadas en la EDAR de la ciudad. Los análisis son realizados por el Grupo de Virus Entéricos (Universidad de Barcelona), el Grupo de Patología en Acuicultura (Universidad de Santiago de Compostela), y los laboratorios de IATA y CEBAS (CSIC).

#### Monitorización de virus y covid-19 en aguas residuales.

##### Aquavall en con:

- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico.
- Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
- Instituto de Procesos Sostenibles de la Universidad de Valladolid.



Además, participa en otras dos iniciativas. La primera, un proyecto de seis meses para la monitorización en varios puntos de la red de alcantarillado, realizado con el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACYL) con el fin de ampliar con mayor detalle la incidencia en la ciudad analizada por el proyecto VATAR. Se analizan las dianas N1, N2 y E en los barrios de la zona oeste a través del muestreo en el sifón que permite el cruce del Pisuerga a las aguas residuales; y en el colector de Argales a su entrada en La Rubia, donde llega con parte de las aguas de Delicias y del propio polígono industrial.



Por último, al amparo del art. 50 de la LRJSP, Aquavall mantiene un convenio específico de colaboración con el Instituto de Procesos Sostenibles de la Universidad de Valladolid, para la realización de pruebas de detección y predicción de epidemias en el contexto del proyecto de investigación "FIVI: Desarrollo de una plataforma online de predicción epidemiológica del SARS-CoV2 e Influenza basada en datos de aguas residuales", con un recorrido previsto de varios años.



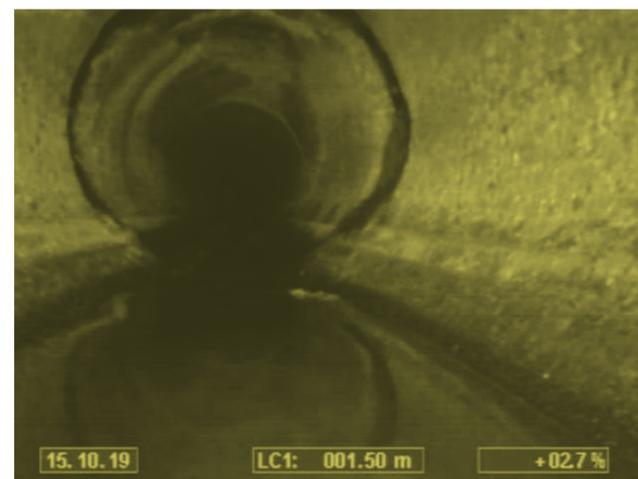
# Condicionantes de los resultados

El muestreo, primer paso para realizar un análisis viral en aguas residuales, ya puede condicionar el grado en que los resultados son representativos de la población a estudiar. En la muestra influirán las condiciones de diseño del alcantarillado (tipo de aguas que recoge, mezcla de procedencias...), de transporte (número de acometidas, distancia, tiempo de tránsito...), además del nivel freático y la infiltración de aguas en la red.

También influyen la dotación per cápita, los patrones de consumo de agua y los hábitos higiénicos de la población. O los vertidos de desinfectantes y detergentes que utiliza y son eliminados a través de los desagües. En este último aspecto no menos importantes son los vertidos de actividades industriales, que además de diluir podrían enmascarar o eliminar la carga viral en determinadas zonas y momentos.

Por tanto, el momento del muestreo es también crucial, y debe seleccionarse teniendo en cuenta los tiempos y lugares de generación, así como el camino crítico para el caudal más representativo que deseamos obtener, que será el de mayor concentración de materia fecal.

Así mismo también influyen las condiciones meteorológicas. La variación de la temperatura en el alcantarillado incrementa la concentración viral detectada cuando esta es más fría. Y lógicamente la presencia de precipitación la diluye enormemente, de manera proporcional a la escorrentía captada. Incluso en casos de sistemas separativos de alcantarillado, ya que nunca son totalmente estancos.



Por tanto, dado que se evalúa la concentración de las marcas virales, el grado de dilución de la muestra es importante, pero no absoluto. Además de los anteriores factores que caracterizan el caudal efluente, para tener un indicador de evolución de la pandemia habrá que tener en cuenta también la superficie de la cuenca drenante, dado que hasta la fecha la mayor transmisión es por vía aérea. Esto es especialmente relevante en áreas de edificación dispersa y zonas rurales.

Y como al final se trata de determinar la carga viral en la población, habrá que considerar los factores que determinan el grado de concentración en sus heces. Este parece depender del estadio de la enfermedad, de su duración en el individuo, de su gravedad e incluso de su edad. Al tratarse de muestras agregadas, la inclusión de todos estos factores solo puede hacerse estadísticamente. Para facilitararlo, en muchas poblaciones sin variaciones estacionales, algunos de ellos podrán considerarse constantes.

# Interpretación de resultados

Por otra parte, la variación de la población a considerar a la hora de corregir su excreción viral puede corregirse con biomarcadores, bien endógenos como la creatinina, el colesterol, el coprostanol o el cortisol; o exógenos como la cafeína, la nicotina, el ácido salicílico, el paracetamol, el ibuprofeno o la codeína. Salvo el amonio que puede utilizarse como biomarcador endógeno, el resto requiere una mayor carga analítica sobre las muestras, y puede introducir variaciones debidas a los hábitos de consumo, aunque en algunos casos, como el de los estimulantes están asociadas al incremento del riesgo de contagio y en otros, como los analgésicos, a una sostenida tendencia de crecimiento.

Otro aspecto a considerar antes de interpretar los resultados es cómo puede afectar la recuperación y concentración de virus en las muestras obtenidas. Los métodos habituales, diseñados para virus sin envoltura, con profusión de técnicas: filtración, ultra centrifugación y precipitación con polietilenglicol, no son muy adecuados para este virus y disminuyen su concentración. Parecen más adecuados los que usan filtración electropositiva, controlando el tipo de muestra, membrana a utilizar y el pH. También es crítica la presencia de otros contaminantes en la muestra, tanto porque producirán ineficiencia en la membrana, como porque posteriormente pueden inhibir la reacción de la PCR (grasas, proteínas, sustancias húmicas).

La excreción de virus y por tanto su presencia en las aguas residuales puede originarse tanto en pacientes de Covid-19, como en personas asintomáticas y presintomáticas. En la concentración encontrada influyen multitud de factores poblacionales y tecnológicos, además de los propiamente epidémicos. Pero actualmente la tecnología permite aplicar métodos de vigilancia computacional (Big Data, IA) para analizar la epidemiología de la COVID, tanto a escala mundial como local, incorporando a los resultados de presencia del nuevo coronavirus en los análisis de aguas residuales multitud de parámetros, incluida la simulación hidráulica de las redes de alcantarillado. El procedimiento pasaría por establecer modelos de degradación del virus en la red antes del muestreo; la normalización de la población en estudio, la determinación de los factores de mayor influencia y la elaboración de modelos de análisis y predicción. Sin embargo, estos métodos aún no han sido completamente puestos a punto y se encuentran en fase de desarrollo.

En parte debido a las incertidumbres científicas sobre muchos de estos aspectos, como también por la lógica reticencia a utilizar métodos pormenorizados que podrían desatar comportamientos estigmatizantes en la opinión pública sobre aquellas zonas o poblaciones más castigadas por la pandemia incluso antes de que

sus efectos se produzcan, ya contempladas por las directrices éticas de la OMS en 2017; lo cierto es que hasta la fecha la interpretación de los resultados se realiza mediante indicadores de tendencia, en escala logarítmica, y sin tratar de establecer correlaciones exactas entre las variables, cuya interpretación exigiría mucha cautela por las desviaciones que pudieran conllevar.

Así, la escala interpretativa propuesta por el proyecto VATAR del MITECO y que mayoritariamente que se utiliza en España, se basa en la siguiente tabla de determinación, respecto de la variación de los datos obtenidos en muestras tomadas con una semana de diferencia:

Variación	Unidades logarítmicas de diferencia
Aumento significativo	Más de una unidad logarítmica
Aumento	Entre +0,4 y +1
Estable	Entre -0,4 y +0,4
Disminución	Entre -1 y -0,4
Disminución significativa	Menor de -1

Los criterios de positividad de las muestras que se utilizan en este proyecto son:

- Positivo: cuando se supera el límite de detección para al menos dos dianas, aunque sea inferior al límite de cuantificación en una de ellas, mientras la otra arroje un positivo robusto.
- Negativo: no se identifica ninguna de las dianas del virus.
- Presunto positivo: solo se detecta una diana aunque de manera robusta, y las otras dos dan resultado negativo. El resultado se considera robusto cuando se detectan varias réplicas dentro de la diana, sus valores son coherentes entre sí y con la evolución de semanas anteriores.

Para la cuantificación, en el proyecto VATAR se utilizan pruebas RT-qPCR con series de amplificación de hasta 50 ciclos, considerándose negativos los resultados alcanzados más allá del umbral de cuantificación o paso 40.

Los resultados positivos obtenidos antes del tetragésimo ciclo de amplificación se relacionan con la concentración de copias genómicas del virus por litro (cg/L) expresados en la escala logarítmica ( $\log_{10}$  cg/l) habitual en el estudio de poblaciones microbianas.

# Futuro

La evolución respecto de la semana anterior se determina utilizando las mismas dianas con detección positiva en las dos semanas consecutivas. Si en alguna de ellas no se supera el límite de cuantificación, se utiliza el valor de este, de manera que la categorización incluya los umbrales de incertidumbre de la técnica.

Además, al adoptar esta escala de tendencias y compararla con datos semanales, se absorben las pequeñas variaciones que pueden ser debidas cambios en las condiciones ambientales o a los hábitos puntuales de la población respecto de los momentos de muestreo.

Por otra parte, cuando se desea comparar los datos entre diferentes poblaciones distantes, se deben normalizar los resultados analíticos de los test, corrigiéndolos con la temperatura, el tiempo de viaje en el alcantarillado y la dotación de agua por habitante. Así se ha realizado la comparación entre Wuhan, Milán, Madrid, Nueva York, Teherán, Seattle, Detroit y Nueva Orleans.

En este caso, para realizar una interpretación más allá de la tendencia, se comparan los resultados analíticos con los indicadores sanitarios de prevalencia y de incidencia. Es decir, se debe considerar la proporción de individuos que presentan la infección; y de nuevos casos durante un periodo determinado. Esta comparación entre ciudades e indicadores sanitarios permite avanzar en el ajuste de los modelos matemáticos orientados a predecir la evolución de manera cuantitativa.

En un orden cronológico creciente, a partir de ahora veremos:

- Una vez desatada esta pandemia, la monitorización de las aguas residuales que permite realizar una inferencia del verdadero alcance de la enfermedad de manera agrupada, va a ser especialmente útil en aquellas poblaciones o países que carecen de los recursos necesarios para realizar pruebas individualizadas de forma masiva. Se estima que, considerando solamente las EDAR, a nivel mundial se podría monitorizar a 2.100.000.000 personas a través de 105.600 plantas depuradoras. Su número sería mucho mayor si consideramos las redes de alcantarillado en las zonas que carecen de EDAR, o incluso la posibilidad de testar el medio receptor en otras sin infraestructuras.
- En el futuro más inmediato veremos la consolidación de una nueva rama de la ciencia: la epidemiología basada en aguas residuales o WBE (Wastewater-Based Epidemiology), para monitorizar enfermedades infecciosas y ayudar a gestionar su incidencia en la población. El concepto teórico surgió en 2001, y en los años siguientes se utilizó para detectar drogas y medicamentos en diferentes poblaciones.
- Esta rama de ciencia WBE desarrollará en primer lugar nuevos métodos de extracción y purificación de muestras biológicas de aguas residuales; y aprovechará el avance de técnicas moleculares como la PCR digital, que resultan

más sensibles al dividir el RNA diana en miles de unidades de reacción en vez de utilizar solo una matriz compleja, más fácilmente afectada por contaminantes e inhibidores.

- Estos nuevos métodos facilitarán la identificación de un mayor número de especies víricas a través de las aguas residuales. La mayor parte de ellos serán inocuos para los seres humanos. Incluso algunos podrían estar integrados en mecanismos biológicos cuyo funcionamiento podrá comprenderse mejor, abriendo nuevas vías de investigación.
- Se aplicarán de forma generalizada técnicas de análisis masivo de datos y de inteligencia artificial para extraer la mayor cantidad posible de conocimiento de la información disponible, tanto para la interpretación de los resultados de los análisis de agua, como en la investigación e identificación de nuevas especies de microorganismos y contaminantes.
- A medio plazo se desarrollarán reglamentos que obliguen a un mayor control de los efluentes. Los lugares que generan aguas residuales biomédicas, con alto riesgo biológico, deberán contar con tratamientos de desinfección previos a su vertido a las redes de alcantarillado.
- Se definirán nuevos biomarcadores asociados no solo a los riesgos sanitarios del agua, sino también a los riesgos generales de la salud pública utilizando el agua como vector de indicación.
- El mayor conocimiento sobre contaminantes emergentes en las aguas permitirá por una parte perfeccionar los métodos de potabilización de agua, y también mejorar las tecnologías de depuración de aguas residuales para limitar sus efectos negativos sobre el medio ambiente y nuestra salud; en tanto se limita su uso y se desarrollan sustitutos menos agresivos y nuevos medicamentos.
- Se desarrollarán tecnologías que faciliten una monitorización regular de los lugares de riesgo o que puedan actuar como reservorios de patógenos, con las que se pueda ayudar a identificar de manera temprana futuras epidemias. Estas tecnologías serán cruciales para lograr la rapidez y el grado de detalle espacial necesarios para una óptima gestión de los riesgos y las alertas.
- A largo plazo se tratará de identificar con precisión los microorganismos resistentes con bajo poder patógeno y alta probabilidad de mutación presentes en agua; y también en la detección temprana de futuras zoonosis a través de las aguas residuales, para prevenir brotes como los dos provocados por SARS, el MERS, el ébola, el virus del Nilo Occidental ó el H5N1 solo en las últimas décadas.).
- La sociedad aceptará los costes asociados de prevención de la salud asociados al uso del agua.

# Bibliografía

Ahmed, Warish et al. “*Decay of SARS-CoV-2 and surrogate murine hepatitis virus RNA in untreated wastewater to inform application in wastewater-based epidemiology*”. CSIRO, Queensland University. 2020.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935120309890>

Cantalupo, P.G. et al. “*Raw Sewage Harbors Diverse Viral Populations*”. American Society for Microbiology.

<https://mbio.asm.org/content/2/5/e00180-11>

Casanova, L. et al. “*Survival of surrogate coronaviruses in water*”. University of North Carolina Chapel Hill, 2009.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135409000785>

Espinosa-García.A et al. “*Virus en sistemas acuáticos e implicaciones en salud pública*”. Universidad Autónoma de México, 2003.

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-88972004000200011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972004000200011)

González-Pleiter, M et al. “*Los antibióticos también viajan por el agua adheridos a micro plásticos*”.

<https://www.iagua.es/blogs/miguel-gonzalez-pleiter/antibioticos-tambien-viajan-agua-adheridos-microplastico>

Hart, O. et al. Arizona State University, 2020.

“*Computational analysis of SARS-CoV- 2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges*”.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720323925>

Hovi, T. et al. “*Role of environmental poliovirus surveillance in global polio eradication and beyond*”, Cambridge University Press 2012.

<https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/role-of-environmental-poliovirus-surveillance-in-global-polio-eradication-and-beyond/DBB1EC7A25FBB252D7EDF9F2F7939FE3>

INSHT. Ministerio de trabajo y Asuntos Sociales. “*NTP 473: Estaciones depuradoras de aguas residuales: riesgo biológico*”.

[https://www.insst.es/documents/94886/326962/ntp\\_473.pdf/79faa591-aafb-4394-b950-910ea94e9a15](https://www.insst.es/documents/94886/326962/ntp_473.pdf/79faa591-aafb-4394-b950-910ea94e9a15)

Kuldeep, D. et al. “*SARS-CoV-2 existence in sewage and wastewater: A global public health concern?*”.

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0301479720317503?token=C0E435A0B8C715E578671B0929A00F9CF549F6D9C911E2EE2ED8481829FFBBBE02DBF7F1B798EBCBA1799B3831A25547>

Monitorización de virus y covid-19 en aguas residuales.

Aquavall en con:

- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico.
- Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
- Insituto de Procesos Sostenibles de la Universidad de Valladolid.

La Rosa, G et al. “*First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy*”. 2020.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969720331727>

Medema G. et al. “*Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands*”. KWR Water Research Institute, Nieuwegein. 2020.

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.estlett.0c00357>

Newton, R. et al. “*Quantitative microbial risk assessment of SARS-CoV-2 for workers in wastewater treatment plants*”. Brasil 2021.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720356928>

Polo, D. et al. “*Making waves: Wastewater-based epidemiology for COVID-19 – approaches and challenges for surveillance and prediction*”. Universidad de Santiago de Compostela, 2020.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135420309398>

Randazzo, W., Truchado, P., Allende, A., Sánchez, G. Protocolo para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales. VIARAL-CSIC. 2020.

[https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/protocolo-sars-cov-2-iata-cebas-csic\\_tcm30-517282.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/protocolo-sars-cov-2-iata-cebas-csic_tcm30-517282.pdf)

Rodríguez Manzano, J. Tesis doctoral “*Detección y caracterización de virus patógenos emergentes de interés general en seguridad alimentaria*” Universidad de Barcelona, 2012.

<https://www.tdx.cat/handle/10803/83324#page=1>

Rosell Campos, F. Ayuntamiento de Valladolid, 2009. “*Historia del Saneamiento de Valladolid*”.

Vatar – Covid 19. Site official.

<https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/vertidos-de-aguas-residuales/alerta-temprana-covid19/default.aspx>

Wang, X.W. et al. “*Concentration and detection of SARS coronavirus in sewage from Xiao Tang Shan hospital and the 309th Hospital of the Chinese People’s Liberation Army*” Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Tianjin, China. 2005.

<https://iwaponline.com/wst/article/52/8/213/11065/Concentration-and-detection-of-SARS-coronavirus-in>



# AVANCES Y EXPERIENCIAS DE LA CIUDAD DE BARCELONA

María José Chesa Marro.  
Jefa del Servicio Ambiental y Relaciones Externas  
Ciclo del Agua. Ayuntamiento de Barcelona

El Ayuntamiento de Barcelona, a través de la dirección de “Barcelona Cicle de l’Aigua” (BCASA) participa en diversos proyectos de ámbito catalán y europeo que están investigando el impacto del SARS-CoV-2 en el ciclo del agua, así como el análisis del virus en las aguas residuales como un sistema de alerta precoz.

Se trata de diferentes proyectos liderados por universidades y centros de investigación, donde el ayuntamiento anteriormente ya estaba participando en relación a unos estudios de la calidad del agua, y que a partir de ahora, se incorporaran elementos para evaluar el impacto del SARS-CoV-2 en los diferentes tipos de masas de agua. Concretamente, se está trabajando en los ámbitos de las aguas residuales, aguas subterráneas, aguas de escorrentía y aguas de baño.

Estos proyectos son una oportunidad para los diferentes centros de investigación para testar algunas pruebas piloto de ámbito europeo, con el objetivo de encontrar el impacto del coronavirus en el ciclo del agua. La viabilidad de cada uno de los proyectos se irá evaluando durante los próximos meses. En función de los resultados que se obtengan, se podrían replicar en otras ciudades. Los resultados de los diferentes estudios los harán públicos dentro de las normativas de cada proyecto y convocatoria asociada.

Finalmente, destacar que la participación en las redes de conocimiento de los operadores públicos de agua: Aqua Publica Europea, AEOPAS, ACA, AMAP, así como el trabajo con universidades (UB) y centros de investigación del agua (ICRA, IDAEA-CSIC) nos ha ayudado a ampliar nuestro conocimiento y mejorar en la gestión de la pandemia en nuestra ciudad.

# Proyectos europeos

A continuación se enumeran una serie de proyectos de ámbito europeo donde participamos como socios:

Proyecto	Ámbito	"Tipo de masa de agua Altres anàlisis"	inicio del proyecto	inicio análisis SARS-CoV-2	final del proyecto
iBATHWATER	Aguas de baño	aguas de baño, aguas residuales, DSU	Septiembre 2018	Julio 2020	Diciembre 2021
SCOREWATER	Alcantarillado	aguas residuales	Mayo 2019	Noviembre 2020	Mayo 2023
URBANWAT	Aguas subterráneas	aguas subterráneas	Septiembre 2019	Julio 2020	Diciembre 2021
UNBIASED	Masas de agua ciudad	aguas subterráneas, residuales y pluviales	Enero 2019	Julio 2020	Diciembre 2021
Mesa de Expertos ACA-Salud	Alerta precoz, Gestión pandemia	aguas residuales	Junio 2020	Julio 2020	Diciembre 2020

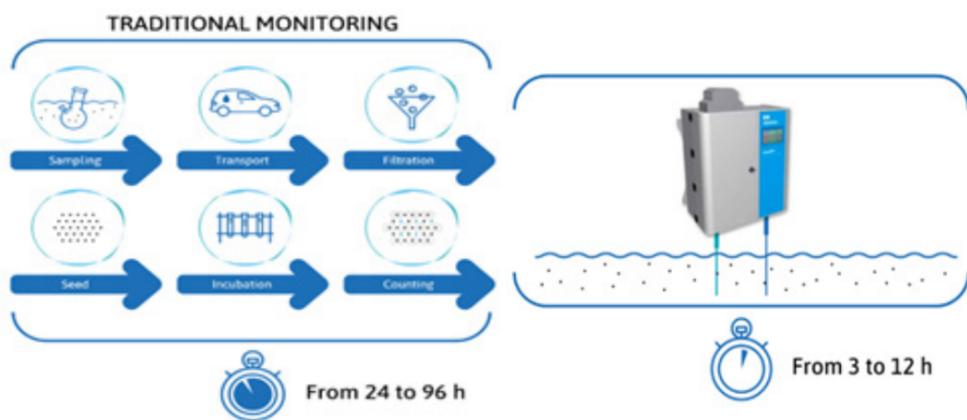
## LIFE-IBATHWater. Projecte LIFE “Advance urban water management to efficiently ensure bathing water quality”

El objetivo de este proyecto es mejorar la calidad de las aguas de baño en episodios de contaminación de corta duración producidos por las lluvias en entorno urbano. Se inició en septiembre de 2018 y finalizará en diciembre de 2021. Concretamente se desarrolla en dos ciudades piloto, Barcelona (aguas litorales) y Berlín (aguas continentales).

En Barcelona los equipos pilotos se han instalado en la playa de Bogatell y en la playa de Somorrostro:



Los equipos instalados, denominados “AquaBio”, son equipos de medida continua de E.coli y enterococos en agua superficial. El principio de medida para los E.coli es la fluorimetría y la colorimetría para los enterococos. El rango es de 0 – 108NMP y el tiempo de detección entre 3 h a 10,5 h.



Comparación entre el tiempo de detección de un equipo tradicional y el AquaBio.

El proyecto también incorpora tecnologías para la retención de sólidos flotantes; un modelo matemático de predicción de la calidad de las aguas de baño y un sistema de apoyo a la decisión para mejorar las estrategias anti-DSU de la red de depósitos de retención de aguas de lluvia.



Sistema de retención de flotantes

Para llevar a cabo estos objetivos, el proyecto realiza varias campañas de muestreo en aguas de baño, aguas residuales y DSU. Los parámetros analizados en laboratorio incluyen determinaciones físico-químicas (conductividad, pH, salinidad, turbidez, DBO, nutrientes, aceites y grasas, clorofila, etc.), contaminantes emergentes, indicadores de las aguas de baño (E.coli y enterococos intestinales), protozoos (Cryptosporidium, Giardia), bacterias (Campylobacter), e indicadores de virus: norovirus, coronavirus.

## H2020 Scorewater

La crisis del coronavirus ha motivado un nuevo objetivo, el análisis de la presencia del virus en las aguas de baño, aguas residuales y DSU. No tenemos constancia de que haya en curso otros proyectos con este amplio objetivo de caracterización del impacto del SARS-CoV-2 en aguas de baño.

Las determinaciones de los virus se realizan en el Laboratorio de Virus de la Universidad de Barcelona, que lidera la Dra. Rosina Gironés, experta a nivel mundial sobre el impacto del coronavirus al ciclo del agua. En el proyecto participan EURECAT (Centro Tecnológico de Cataluña), ADASA, Kompetenzt Zentrum Wasser (Berlín), el Ayuntamiento de Barcelona y Barcelona Ciclo del Agua.

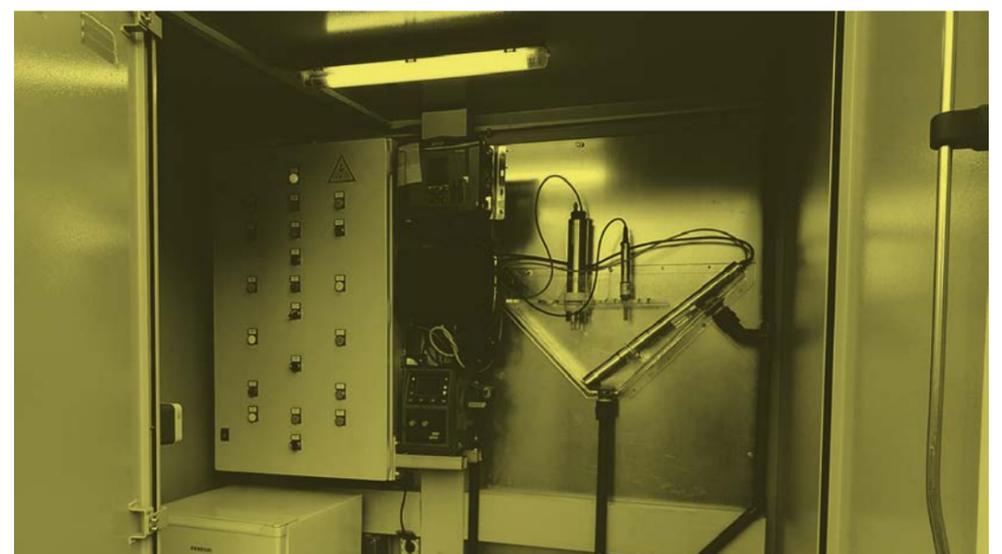
El día 30/07/20 se realizó una campaña de tres muestras de agua de mar con un volumen de 50 litros/muestra. La metodología empleada fue un filtrado Rexeed-25A y filtros Centricon Plus-70 de 30KDa, hasta obtener una muestra concentrada de 200 l. La extracción kit comercial (QIAmp® Viral RNA kit) y la realización de una PCR cuantitativa específica SARS-CoV-2 (ensayos NI i N2, CDC, 2020), norovirus humanos del genogrupo I y II (da Silva et al., 2007) y adenovirus humanos (Bofill et al., 2006). Los resultados obtenidos para el SARS-CoV-2 fueron negativos.

	EQBOG	DSUBBOG	PBOG
Adenovirus humans	ND	3,93E+01 GC/50L	ND
Norovirus genogrup I	ND	ND	ND
Norovirus genogrup II	ND	ND	ND
SARS-CoV-2 (gen N, regió N1)	ND	ND	ND
SARS-CoV-2 (gen N, regió N2)	ND	ND	ND

El proyecto SCOREWATER se desarrolla en tres ciudades europeas, Goteborg (impacto de infraestructuras / construcción del ciclo del agua), Amersfoort (inundaciones e impacto del cambio climático) y Barcelona (sociología del alcantarillado “Sewer Sociology”).

Este proyecto, que se inició en mayo del 2019, está dotado con fondos europeos con el objetivo de analizar la correlación entre la calidad de las aguas residuales y la calidad de vida con los hábitos ambientales. En las estaciones de calidad de aguas residuales se analizarán “on-line” 11 parámetros (materia orgánica, H2S líquido, H2S gas, amonio, potasio, pH, temperatura, nivel, caudal, aceites y grasas, turbidez). Añadir que las estaciones de calidad están dotadas de toma muestras que nos permitirán analizar “off-line” hasta 15 parámetros (antibióticos, microbioma, nada resistente, virus, etc.). Per otra parte, el proyecto también evaluará también la presencia de toallitas, aceites, grasas, etc.

Dentro de la ciudad de Barcelona, el proyecto contempla la instalación de tres estaciones de calidad de aguas residuales en tres barrios diferentes. Los resultados de este proyecto nos permitirán dirigir campañas de sensibilización ciudadana para evitar contaminación en origen - vertido de residuos impropios al alcantarillado. En el piloto de Barcelona participan ICRA, EURECAT, SCAN y IERMB.



Estación de calidad donde se analizan los parámetros “online”.

En este proyecto se ha previsto también ampliar un nuevo objetivo que será analizar el coronavirus a nivel de barrio. La mayor parte de estudios en curso realizan estos análisis en las EDARs (Estaciones depuradoras), y este proyecto podría aportar nuevos datos en el estudio del establecimiento de un sistema de alerta precoz de la pandemia mediante el análisis de las aguas residuales.

## Urbanwat y Unbiased

El Ayuntamiento de Barcelona también ofrece apoyo técnico a dos proyectos en curso (URBANWAT y UNBIASED) que han incorporado el análisis del coronavirus en aguas subterráneas, en aguas de escorrentía superficial y aguas residuales, a las determinaciones previstas inicialmente en el estudio. Los proyectos están liderados por el centro de investigación IDAEA-CSIC y las determinaciones de coronavirus se realizan por parte del Laboratorio de Virus de la Universidad de Barcelona (UB), dirigido por la doctora Rosina Gironès.

El proyecto URBANWAT (Acrónimo: Tools and criteria for URBAN groundwater management) tiene como objetivo conseguir herramientas para una mejor gestión de las aguas subterráneas en entorno urbano. El día 17/07/20 se realizó una campaña de cuatro muestras de agua subterránea con un volumen de 100 litros/muestra. Se cuantificó el virus SARS-CoV-2 mediante ensayos para detectar la nucleocápsida viral – genes N1 i N2 y los resultados para SARS-CoV-2 fueron negativos.

El proyecto UNBIASED (Acrónimo: Urban Bio-geochemistry: Integrating the Air, water, Soil and microbiological science needed to underpin pollution management) tiene como objetivo conseguir herramientas para conocer el impacto de la contaminación en el aire, agua y suelo en entorno urbano. El día 17/07/20 se realizó una campaña de cuatro muestras de agua en colectores con un volumen

de 1litro/muestra. Se cuantificó el virus SARS-CoV-2 mediante ensayos para detectar la nucleocápsida viral – genes N1 i N2 y los resultados para SARS-CoV-2 fueron negativos.

## Mesas de expertos ACA-SALUD

Paralelamente a estos proyectos, el Ayuntamiento de Barcelona, a través de BCASA, ha sido invitado a participar en una mesa de trabajo para avanzar en el conocimiento, coordinar y buscar sinergias en las iniciativas que se están llevando a cabo en Cataluña para ampliar el conocimiento del coronavirus en el ciclo del agua. En esta mesa de trabajo están presentes al ACA, el Departamento de Salud, el ICRA, EURECAT, el Centro de Regulación Genómica, UB-Laboratorio de Virus, UB-Virus Entéricos, el AMB, CWP y ABEMGCIA-CETAQUA.

## Más información

Web del proyecto LIFE-IBATHWater:

<https://www.ibathwater.eu/>

Web del proyecto H2020 SCOREWATER:

<https://www.scorewater.eu/>



# **EXPERIENCIAS SOBRE SEGUIMIENTO DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD COVID-19 MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE ARN DE SARS-COV-2 EN AGUAS RESIDUALES DE PEQUEÑOS MUNICIPIOS. RELACIÓN CON LA INCIDENCIA SANITARIA**

Pedro Tomás Martín de la Vega Manzano, María Isabel Fernández Fernández, María Fátima Fernández Fernández, Alejandro Oreja Piris y Juan Pedro García Garrido.  
Consortio para la Gestión de los Servicios Medioambientales de la Diputación de Badajoz, PROMEDIO.

# Introducción

Pasado un año desde que apareció la enfermedad COVID-19 asociada al virus SARS-CoV-2 son más de un centenar de millones de personas en el mundo las que se han visto y se ven afectadas por esta infección. Es innegable que la situación de pandemia que se vive en la actualidad ha obligado a la comunidad científica a redoblar los esfuerzos en la búsqueda no solo de soluciones a la infección, sino soluciones para rastrear y predecir la expansión de la enfermedad en todos los ámbitos, municipales, comarcales, regionales, nacionales e internacionales.

En la actualidad, el conocimiento sobre el SARS-CoV-2 es muy amplio, se conoce que se trata de un virus encapsulado aproximadamente de entre 100-130 nm de tamaño [Yao et. al., 2020] con una cadena de ARN de 30 kb de longitud de polaridad positiva, del que se tiene constancia de la transmisión área y la capacidad de infección de células en el tracto digestivo, siendo excretado a través de las heces [Gu et al., 2020; Xiao et. al., 2020]. Este último hecho es de gran relevancia, ya que el único punto de unión en cualquier comunidad o población es su red de saneamiento, red que finaliza, por norma, en un único punto que es la Estación de Tratamiento de Aguas Residuales (EDAR). Así, contar con un sistema que desemboca en un punto y que interconecta un núcleo urbano permite que, vigilar la presencia de ARN de SARS-CoV-2 en las aguas residuales, se convierta en una forma de contar con un punto de medida que refleja la situación de expansión de la infección en un territorio.

El interés por muestrear las redes de saneamiento y analizar el ARN de SARS-CoV-2 en muestras de aguas residual ha generado que un amplio número de países hayan puesto en marcha sistemas de vigilancia enfocados en dicha masa de agua. La institución Water Research Foundation (WRF) realizó una encuesta en abril 2020 en la que participaron 35 países y en la que se recogió información de un total de 169 sistemas de vigilancia basados en aguas residuales. Las estadísticas sobre este estudio han sido publicadas por [Zhou et. al., 2021], quedando de manifiesto que dichos sistemas de vigilancia en su mayoría fueron aplicados en grandes urbes, en concreto el 93,9% de los estudios se centraban en grandes poblaciones, quedando los pequeños núcleos y las zonas rurales fuera de la aplicación de estos sistemas de vigilancia.

En este sentido, teniendo en cuenta que nos encontramos ante una pandemia a nivel mundial, es preciso evaluar el efecto de los sistemas de vigilancia aplicados en redes de saneamiento en pequeños núcleos en zonas rurales, puesto que son multitud de regiones en las que la mayor parte de la población se focaliza en pequeños núcleos urbanos, como es el caso de Extremadura, en la que en torno al 60 % de la población reside en pequeñas y medianas poblaciones. Mas teniendo en cuenta el éxodo al mundo rural que ha generado el efecto del confinamiento de las grandes ciudades, siendo por tanto el crecimiento de las pequeñas poblaciones exponencial en este último semestre.

De esta manera, en el presente trabajo se recogen las experiencias acumuladas en la puesta a punto de un sistema de vigilancia y alerta temprana en la provincia de Badajoz, basado en una campaña de muestreo aleatoria sobre un número de 70 poblaciones entre 200 y 30.000 habitantes. El sistema puesto en marcha fortifica el muestreo en aquellos casos en los que se detectaron dos muestras positivas consecutivas en ARN de SARS-CoV-2 en agua residual, con objeto de registrar el ascenso y descenso de la curva de incidencia sanitaria y estudiar su relación con la carga vírica en el agua residual. Así, se mostrará el diseño de la campaña de muestreo y el resultado de esta en relación con las curvas de incidencia en la población e igualmente se mostrará el ábaco de seguimiento diseñado aplicando la metodología de análisis basado en riesgo. En el presente artículo no se hará hincapié en el método analítico ya que el análisis se ha realizado siguiendo el protocolo publicado por el Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico [Randazzo et. al. 2020].



# Materiales y métodos

## Proceso de toma de muestras

El diseño de la campaña de toma de muestras resulta determinante en la detección de ARN de SARS-CoV-2 en el agua residual [Ahmed et. al., 2020], especialmente en el caso de los pequeños y medianos municipios, debido a las marcadas fluctuaciones diarias de caudal que experimentan con relación a las suavizadas variaciones de caudal que circulan por las redes de saneamiento de las grandes poblaciones. En este sentido, es de vital importancia establecer una serie de premisas respecto al tipo de muestra, al punto y frecuencia de muestreo y a las condiciones de almacenamiento y transporte hasta el análisis. Todos estos condicionantes siempre teniendo en cuenta el objetivo final de los sistemas de vigilancia, y es la de detectar material genético en las muestras y conseguir evaluar a través de los resultados analíticos el grado de dispersión de la enfermedad.

El diseño de la campaña siempre estará condicionado por el límite de detección de la técnica analítica, ya que, se parte de la premisa que una carga vírica concentrada en las heces de las personas infectadas se va a diluir en una masa de agua residual con diferentes aportes, tanto urbanos como industriales como de todas aquellas aguas de escorrentía que puedan acceder a la red de colectores. Así, la dilución de la carga vírica puede llegar a ser de entre 4 y 5 órdenes de magnitud en la escala logarítmica en base 10 [Foladori et al., 2020]. De esta manera, teniendo en cuenta que diversos autores, [Cheung et al., 2020] [Wölfel et. al., 2020], han establecido cargas virales en las heces entre 5 y 11 unidades logarítmicas en base diez por litro, los rangos de carga vírica en las heces estarán entre 2 (que es el límite de detección de los métodos analíticos para el análisis en las heces) y 4-5  $\log_{10}$  (copias/L). Por tanto, es preciso diseñar la campaña de muestreo bajo la premisa de tomar muestras con la máxima carga vírica.

## Tipo de muestra

En este caso, se establecen dos posibles tipologías, muestras simples, tomadas en un instante de tiempo determinado, o muestras compuestas, es decir, composición de una serie de muestras tomadas en el mismo punto a diferentes intervalos de tiempo, donde el volumen final se puede deber a la composición de muestras de volumen fijo o muestras de volumen variable en función del caudal.

En la bibliografía, son múltiples los autores que han realizado su seguimiento basado en muestras simples [Medema et. al., 2020] [D'Aoust et. al., 2020], si bien, un último estudio publicado basado en estadísticas sobre los sistemas de monitorización de SARS-CoV-2 en aguas residuales ha demostrado que, en la mayoría de los casos, la tendencia es la toma de muestras simples, en un 63,8 % de los estudios publicados [Zhou et. al., 2021].

En este caso, y en base a la experiencia, en este trabajo se muestreó una población de 5.000 habitantes y otra de 30.000 habitantes durante un mes (en fase ascendente de incidencia acumulada a 14 días, entre 100-500 casos/100.000 habitantes), de forma que se tomaron muestras simples en la franja horaria de 12:00 a 15:00 y muestras compuestas de 24 horas de volumen fijo tomadas cada hora exactamente del mismo día. Dicho estudio se realizó semanalmente durante un mes, comprobándose que las muestras compuestas presentaban una carga vírica entre 1 y 2 unidades logarítmicas en base diez inferiores a las muestras simples. De ahí, que la decisión, teniendo en mente el hecho de que el límite de detección es un hándicap para tener en cuenta, se optase por diseñar las campañas de muestreo sobre muestras simples.

## Punto de muestreo

Ya que el objetivo era establecer un sistema de vigilancia y alerta temprana sobre presencia y evolución del SARS-CoV-2, el punto de muestreo debía ser aquel que fuese el más representativo de la población o la región que se pretendía vigilar y seguir, evitando en gran medida todos aquellos agentes que pudiesen generar una heterogeneidad en la mezcla de agua residual.

Son multitud los puntos de muestreo que se pueden considerar, desde puntos internos de la red de saneamiento, estaciones de bombeo, entrada a la estación depuradora de aguas residuales, salida de los decantadores primarios, efluente de la propia instalación de depuración y aguas continentales.

En ese sentido, los puntos correspondientes a efluentes de depuradoras y aguas continentales desvirtúan el objetivo de seguimiento y control de población, puesto que los efluentes pasan por un proceso de descontaminación biológico y las aguas continentales sufren un factor de dilución altísimo, afectando ambas situaciones a los límites de detección del método.

Por otro lado, son varios los autores que han considerado que la toma de muestra en la salida de los decantadores primarios es el punto óptimo, [Peccia et. al., 2020] [Balboa et. al., 2021], teniendo en cuenta que el punto de muestreo estaría en la línea de fango, es decir, que se estaría analizando fangos en lugar de agua, por considerar que el ARN vírico tiene mayor prevalencia en muestras con alta concentración de sólidos y materia orgánica. Si bien, en estos estudios no se han considerado los tiempos de residencia tanto hidráulico como celular de este tipo de fangos y la influencia del proceso biológico que ocurre en el propio decantador primario, puesto que el tipo de sedimentación que se produce en los mismos es una sedimentación floculenta acompañada de una fermentación de materia orgánica en los casos en que el tiempo de retención es alto. Este

hecho, unido a que el presente trabajo se centra en las poblaciones de pequeño y mediano calado, es decir, poblaciones cuyas instalaciones de depuración no poseen un tratamiento primario, hace que este punto de muestreo no sea apropiado.

Por tanto, los puntos óptimos de muestreo son aquellos centrados en la red de saneamiento y entrada a la EDAR. Así, en base a la experiencia acumulada, en el presente estudio se han desechado las estaciones de bombeo, por observarse que las mismas cuentan con amplios pozos de retención que diluyen la muestra. Se han identificado como puntos óptimos los aliviaderos de control de desbordamiento previos a la entrada a los emisarios, principalmente porque son puntos que permiten el fácil acceso a los mismos con vehículo, en los que el acceso a la lámina de agua es apropiado, normalmente se encuentran a cielo abierto, y porque cuentan con sistemas de retención de caudal que permiten una profundidad de agua adecuada sin tener tiempos de retención hidráulicos altos, por tanto se puede tomar la muestra a 10 cm de la superficie evitando el arrastre de la biopelícula que se genera en fondo de la red de colectores.

## Hora de toma de muestra

Bajo la premisa de la búsqueda del punto de máxima carga y teniendo en cuenta que las acciones para frenar la pandemia, esto es, los confinamientos domiciliarios, los cierres perimetrales, el cese de actividad no esencial y los toques de queda, han modificado los hábitos diarios en el domicilio, se realizó un experimento basado en muestrear dos poblaciones, una sometida a la totalidad de restricciones antes comentadas por alta incidencia del virus y otra sin ningún tipo de restricción. Se realizó un muestreo de 24 horas, tomando muestras

cada hora con un volumen fijo de 250 mL, el muestreo se realizó refrigerado, asegurando que la temperatura durante el proceso de toma se mantuvo entre 2 y 10 °C y se realizó en un punto de la red de saneamiento previo a la estación depuradora. A raíz de las 24 muestras se generaron 4 muestras compuestas, diferenciándose 4 bloques del día, [1:00 a 6:00]; [7:00 a 12:00]; [13:00 a 18:00] y [19:00 a 24:00]. Sobre las 24 muestras se analizó la concentración de E. Coli (ufc/100 mL); Coliformes Totales (ufc/ 100 mL), Demanda Química de Oxígeno (DQO) (mg/L), Sólidos Totales en Suspensión (SS) (mg/L), mientras que sobre las 4 muestras compuestas se determinó la concentración vírica de ARN de SARS-CoV-2 en (copial/L), tal como se aprecia en la figura 1.

En la figura 1.a, se observa de forma clara que la población con restricciones presenta la máxima carga vírica en el primer tramo de la mañana, en el bloque de [7:00 a 13:00], observándose un segundo pico de carga vírica en el tramo de la última hora del día, asociada al toque de queda a las 23:00. El máximo de carga vírica en este caso coincide con el bloque tanto de máxima concentración de bacterias fecales como de DQO, lo cual refuerza el hecho de que la carga de SARS-CoV-2 en el agua residual está fuertemente relacionada con las heces [Foladori et., al. 2020]. Ahora bien, atendiendo al perfil tanto de carga vírica como de materia orgánica y bacterias fecales de la población sin restricciones, figura 1.b, queda claro que el pico se corresponde con el bloque de [13:00 a 18:00], acorde con los perfiles más comunes de poblaciones urbanas en los que la máxima actividad en el hogar se asocia a las horas que la población termina la jornada laboral. Si bien, en este caso la carga vírica más alta se corresponde con la concentración máxima de DQO pero no con la máxima concentración de bacterias fecales, puesto que en este caso se establece un meseta de alta concentración que comprende los bloques de [13:00 a 18:00] y de [19:00 a 24:00].

Por tanto, queda patente que es preciso calibrar la hora de muestreo, puesto que, en función de la evolución de la pandemia y de las restricciones para combatirla, la máxima carga vírica puede presentarse a diferentes horas. Si bien, del análisis realizado queda claro que la máxima correlación entre concentración vírica y materia orgánica se obtiene frente a la DQO, parámetro de fácil y rápida medición y de menor coste que los ensayos relativos a bacterias fecales. Así, para determinar la hora óptima de muestreo, basta con realizar una calibración del perfil de materia orgánica basado en:

1. Realizar una toma de muestra compuesta, cada hora, abarcando un período de 24 horas.
2. Componer las muestras en 4 bloques.
3. Medir DQO en las muestras compuestas y seleccionar la hora de muestreo para determinación de carga vírica que coincida con la máxima DQO medida.

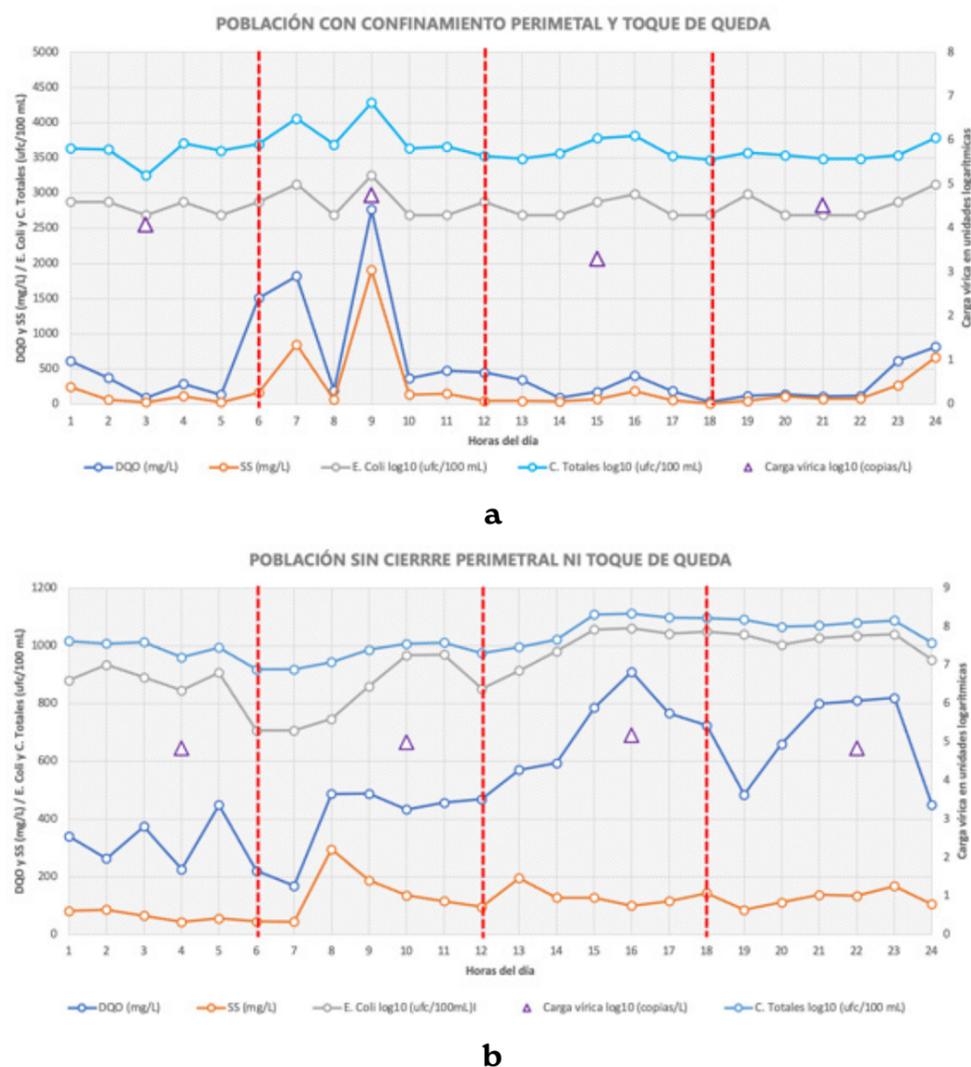


Figura 1. a. Perfil de caracterización 24 horas sobre una población con cierre perimetral, confinamiento domiciliario, cierre de actividad no esencial y toque de queda a las 23:00. 1. b. Perfil de caracterización 24 horas sobre una población sin restricciones.

Teniendo en cuenta que este protocolo es recomendable que se repita en aquellos casos que se implemente una restricción como las antes comentadas, asegurando que la serie de datos de carga vírica siempre se corresponda con el máximo de carga orgánica medida en DQO.

## Condiciones de almacenamiento o transporte

La temperatura es un factor condicionante para asegurar la máxima estabilidad de las muestras de agua residual. En concreto, según la norma UNE-EN ISO 5667-3:2019. Calidad del agua. Muestreo. Parte 3: Conservación y manipulación de las muestras de agua, se establece que la temperatura de transporte debe mantenerse en el intervalo [2-8] °C y la temperatura de almacenamiento en [1-5] °C.

En la bibliografía relativa a la estabilidad del SARS-CoV-2 con la temperatura se ha analizado a la capacidad de infección frente a dicho parámetro, estableciéndose que a 4°C, la estabilidad infecciosa y por tanto la viabilidad del virus en una solución acuosa es muy alta. [Chan et. al., 2020]. Si bien, en publicaciones recientes, [Hokajärvi et. al., 2021], se ha estudiado la viabilidad del ARN vírico en muestras de agua residual frente a la temperatura, demostrándose que a 4 °C se produce una tasa de decaimiento entre 0,4-0,6 log 10 (copias/L), estableciéndose la T50 (tiempo de decaimiento del 50% de ARN vírico) en un valor entre 10-16 días. Igualmente, se establece que el decaimiento a -20 y -75 °C de ARN vírico es imperceptible, teniendo en cuenta que este estudio se realizó sobre las dianas E y N2.

En el presente trabajo, se evaluó el decaimiento de ARN vírico al día 1, día 2 y día 3 de conservación de la muestra a temperatura ambiente, entre 20 y 25 °C, determinándose que la tasa de decaimiento sobre el marcador NI medida como T50 fue de un día y el T90 de tres días.

Por tanto, en vista a la revisión bibliográfica y al estudio realizado en el presente trabajo se puede concluir:

1. En aquellos casos en que se realice una muestra compuesta, es imprescindible que la toma sea refrigerada, evitando altas tasas de decaimiento en el día de muestreo.
2. Se permite que el transporte de la muestra se realice en un intervalo en torno a 4 °C, por ejemplo [2-8] °C como establece la norma internacional, si bien, el almacenamiento en laboratorio se recomienda que se realice a -20 °C.
3. En aquellos casos en los que se realice el almacenamiento a 4 °C, no debe superar más de cinco días su almacenamiento para evitar pérdidas de ARN.

## Frecuencia de muestreo

El objeto del proceso de muestreo es realizar el seguimiento de la carga vírica en el agua residual para emplearlo como indicador de la evolución de la infección en la población, así, es fundamental definir la frecuencia de muestreo basándose en criterios de conexión entre la carga vírica de una persona infectada y su llegada a las redes de saneamiento, siendo la principal vía las heces.

Desde el punto de vista de la expansión de la infección en el ser humano, la fuente de entrada del virus es el sistema respiratorio superior, llegando a las heces por infección de las células gastrointestinales y por ingestión de secreciones respiratorias, detectándose carga vírica en las heces entre 2 y 37 días iniciados los síntomas [Moreira et al. 2020]. Igualmente, se ha establecido que el máximo punto de carga vírica sobre muestra nasofaríngeas difiere entre 3 y 5 días respecto al máximo de carga vírica detectada en las heces [Wölfel et. al. 2020].

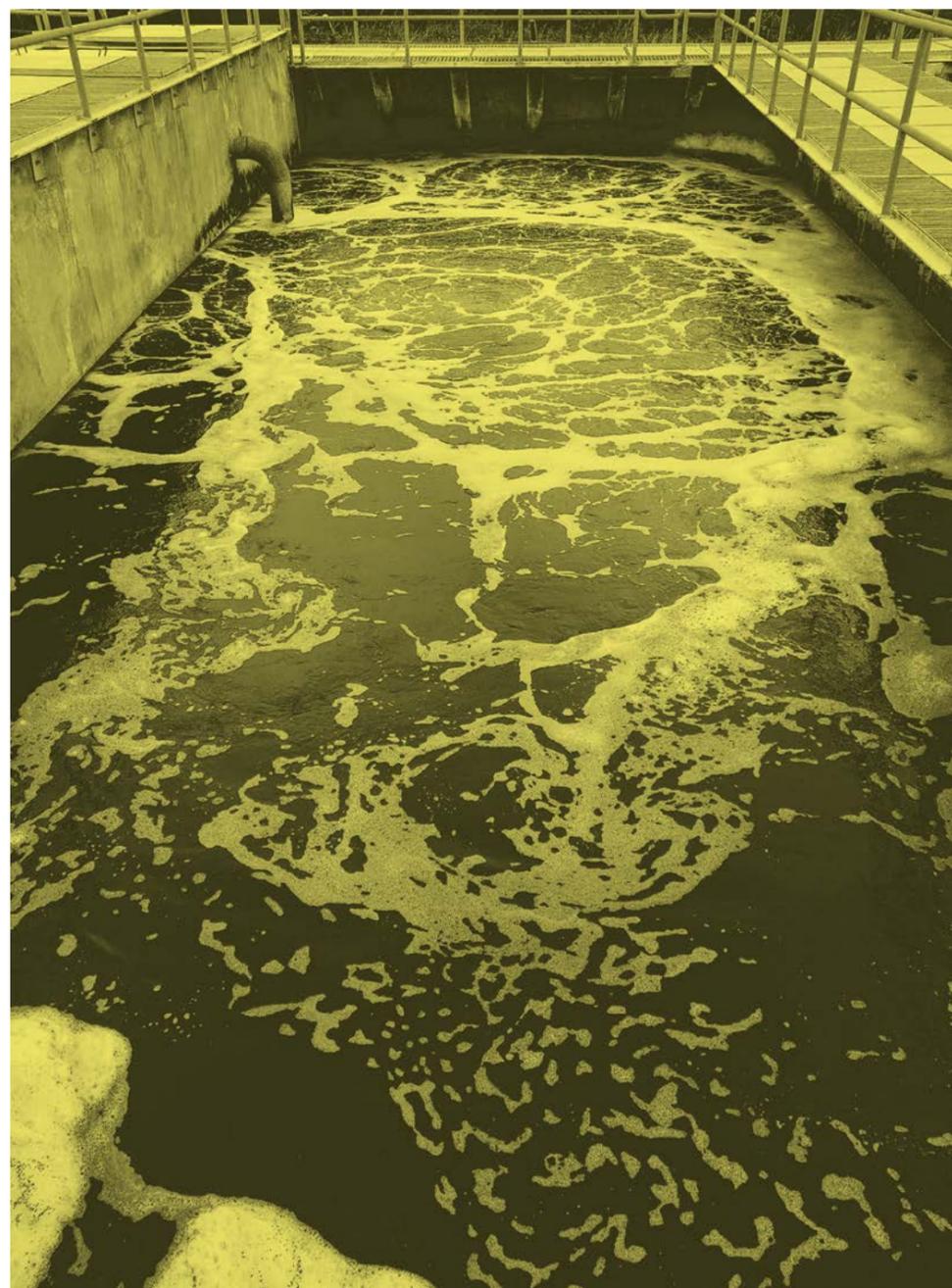
Por tanto, aplicando estos preceptos clínicos y teniendo en cuenta que el límite de detección del método analítico en el análisis de aguas residuales es más elevado al del método analítico sobre muestra humanas, por efecto de la dilución, se concluye que, imponer una frecuencia de muestreo semanal (2 días

más respecto al intervalo entre los picos de carga en el tracto superior respiratorio y las heces) permite detectar la relación entre carga vírica de persona infectada y el retraso que se experimenta en su llegada a las heces y por tanto al sistema de saneamiento.

### **Protocolo de planificación de muestreo para pequeñas y medianas poblaciones.**

Ahora bien, una vez que ha quedado definido el protocolo de toma de muestra, dejando claro que son muestras simples, preferiblemente en red de saneamiento cercana a la entrada a la estación de depuración, tomadas en las franja horaria de máxima carga y con frecuencia semanal, es preciso tener en cuenta que para controlar un amplio número de poblaciones de pequeño y mediano calado, resulta vital una planificación del proceso de muestreo, definiéndose:

1. Muestreo aleatorio semanal de 4 poblaciones de las 70 que integran el estudio.
2. En caso de detectar carga vírica positiva, se toma una segunda muestra tras 7 días. Respetando que otras cuatro poblaciones sigan siendo muestreadas.
3. En caso de que la segunda muestra sea positiva y se detecte un incremento de carga, la población en cuestión es analizada semanalmente hasta detectar que la variación de carga vírica es negativa en dos semanas consecutivas.
4. En caso de superar la capacidad analítica del laboratorio, se muestrean aquellas poblaciones en las que la incidencia sanitaria es más elevada.
5. Siempre que sea posible, se coteja la incidencia acumulada con la concentración de carga vírica y las variaciones semanales.



# Discusión

## Relación entre la incidencia del virus en las muestras nasofaríngeas y las heces

Para entender cómo la vigilancia de la carga vírica sobre muestras de agua residual puede tener conexión con el nivel de expansión de la infección, es preciso conocer la ventana en la que una muestra de agua residual puede ser positiva en relación a la ventana en la que una muestra nasofaríngea humana es igualmente positiva.

Para ello, según [Miura et. al. 2021], el modelo de variación de la carga vírica respecto al tiempo sigue una función como la mostrada en la figura 2, en la que el máximo de carga se alcanza una vez detectados los primeros síntomas, mientras que el descenso de la carga vírica prácticamente representa una función lineal. Dicha curva es similar tanto para carga vírica en muestras nasofaríngeas como muestras de heces y teniendo en cuenta lo ya comentado, es decir, que el tiempo en que la carga vírica llega al tracto digestivo y que el límite de detección es superior en aguas residuales que en muestras nasofaríngeas, queda claro que la ventana de positividad en las muestras de agua residual es mucho más amplia.

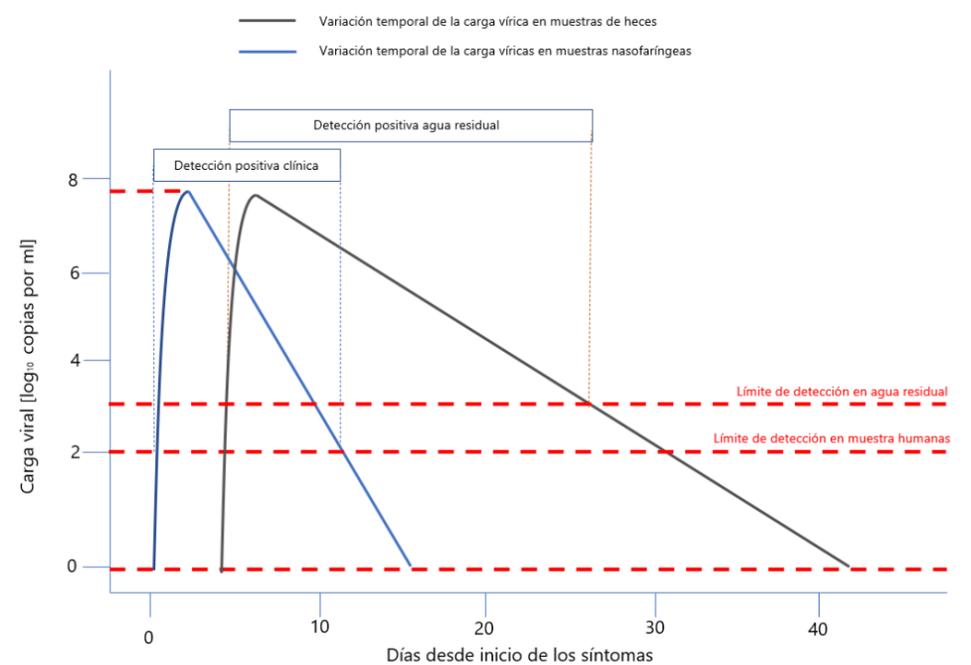


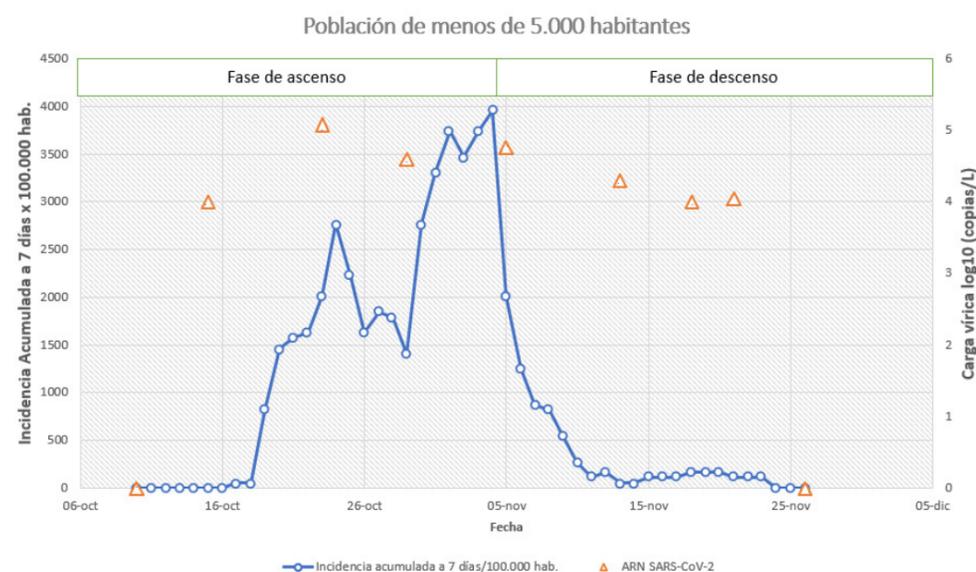
Figura. 2. Modelo de variación temporal de la carga vírica en muestras nasofaríngeas y muestras de heces. Identificación de la ventana de detección positiva.

A este hecho es preciso unirle que la única forma de buscar un punto de conexión de la totalidad de la población es acudiendo al sistema de saneamiento, que ofrece una red con un único punto final. Es decir, en una sola muestra se tiene acceso a la totalidad de la población, incluyendo personas sanas y personas infectadas, tanto sintomáticas como asintomáticas, ya que el modelo de variación de carga vírica en personas asintomáticas sigue la misma función que para sintomáticas con la única diferencia de la cinética reducción, ya que la tasa de reducción de carga vírica en asintomáticos es entre 2-3 veces más rápida, si bien, el pico de carga vírica es similar [Cevik et. al. 2020].

Así, en el agua residual, en una muestra se tiene conexión con los casos sintomáticos y asintomáticos, si bien, si se tiene en cuenta que el momento de máximo punto de carga vírica en el tracto respiratorio superior tiene reflejo entre 5 y 7 días después en el máximo de carga en las heces, resulta evidente que la carga vírica en el agua residual debe tener equivalencia con la incidencia acumulada a 7 días en los casos sanitarios, tal como se puede apreciar en la figura 3 a, b, y c, en el que la carga vírica representa la misma tendencia que la curva de incidencia acumulada.

Se observa que la curva de ascenso de incidencia acumulada a 7 días tiene un reflejo perfecto en la curva de carga vírica detectada en el agua residual, llegando a observarse que la tendencia ascendente observada en el agua residual se adelanta entre 3 y 5 días a la curva de incidencia, es decir, que la vigilancia sobre la red de saneamiento puede permitir una estimación de la expansión de la infección en el núcleo poblaciones.

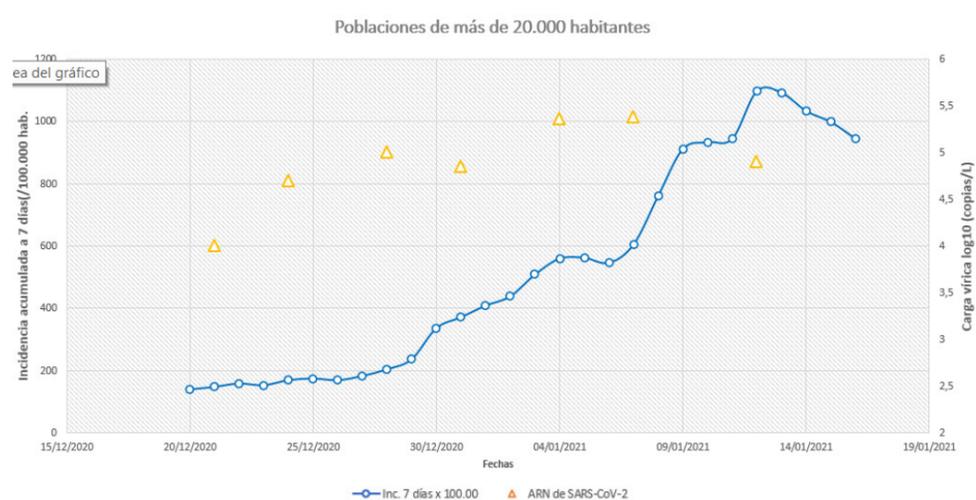
En el caso que ocupa el presente trabajo, es decir, seguimiento de la curva de incidencia en pequeños y medianos núcleos, se ha podido evaluar la relación entre carga vírica en agua residual e incidencia acumulada en la población de forma íntegra, puesto que se ha observado una curva de incidencia ascendente, su estabilización y su total reducción hasta erradicación de los casos a nivel sanitario, figura 3.a, es decir, hasta conseguir el alta de la totalidad de pacientes infectados. Este hecho es una de las principales diferencias del análisis aquí realizado frente a los seguimientos publicados tanto en la bibliografía internacional como el seguimiento a nivel nacional donde se ha priorizado el seguimiento sobre grandes ciudades, ya que la segunda ola de contagios seguida de la tercera ola, no ha permitido que estos grandes núcleos urbanos lleguen a incidencia nula.



a



b



c

Figura 3. Curvas de carga vírica frente a incidencia acumulada a 7 días por cada 100.000 habitantes en poblaciones de diferente rango poblaciones. 3.a Poblaciones de menos de 1.500 habitantes. 3.b Poblaciones de entre 1.500 habitantes y 15.000 habitantes. 3.c Poblaciones de más de 20.000 habitantes.

En este sentido, en este estudio se ha podido evaluar que, durante la fase de descenso de incidencia acumulada, la carga vírica en las muestras de agua residual no presenta correlación con esta tendencia de descenso. Esto responde a la cinética mostrada en la figura 2, ya que a pesar de que el número de infectados presente un descenso por ser superior el número de personas con alta médica, el hecho de que el decaimiento de la carga vírica en las heces frente al tiempo sea más lento que en el caso de la carga vírica en el tracto respiratorio superior, implica que una persona con alta médica excretará ARN vírico durante varios días posteriores a obtener una PCR negativa. Por tanto, el sistema de seguimiento y vigilancia tiene sentido únicamente en la fase de ascenso de la incidencia y evidentemente como alerta temprana, por la demostrada capacidad de anticipación.

## Sistema de análisis de riesgo basado en la carga vírica en aguas residuales

Aplicando metodología de análisis basado en riesgo y teniendo en cuenta la experiencia acumulada en el seguimiento de carga vírica en muestras de agua residual, se ha construido un ábaco para facilitar la interpretación del resultado analítico de las muestras de agua residual y su relación con la incidencia acumulada. El ábaco ha sido construido en base a los resultados de carga vírica sobre el indicador NI, por ser el que ha demostrado mayor nivel de positividad en las muestras y una correlación superior con las curvas de incidencia, tal como se ha constatado en la bibliografía [Hamouda et al. 2020] [Cervantes-Avilés et. al. 2021].

Así, desde el mes de julio hasta el mes de diciembre, se ha observado que la carga vírica en las muestras de agua residual ha variado entre 3 y 5 ud.  $\log_{10}$  copias/L, estableciéndose por tanto tres niveles de concentración en el análisis de riesgo, tal como se

aprecia en la figura 4. Igualmente, teniendo en cuenta que la variación de carga entre muestras semanales tiene una fuerte representación con la incidencia acumulada a 7 días, se han establecido cuatro niveles: variación muy positiva (representa incrementos positivos de dos ud.  $\log_{10}$ ), variación positiva (incrementos de una ud.  $\log_{10}$ ), estabilización (variación en la misma unidad logarítmica, tanto negativa como positiva) y descenso (variación negativa de más de una ud.  $\log_{10}$ ). Solo se ha establecido una situación de descenso por la capacidad de excretar ARN de SARS-CoV-2 a pesar de contar con alta médica, desvirtuando la relación de la carga vírica en agua residual con la incidencia acumulada en fase de descenso.

De esta forma se han establecido cuatro niveles de riesgo.

1. Nivel verde, descenso de la incidencia a 7 días.
2. Nivel amarillo, estabilización de la incidencia 7 días.
3. Nivel rojo, incremento de la incidencia a 7 días.
4. Nivel rojo I. fuerte incremento de la incidencia a 7 días.

Generando esta metodología un mapa de

	Variación muy positiva	Variación positiva	Variación estable	Variación negativa
3 Ud. $\log_{10}$ copias/L				
4 Ud. $\log_{10}$ copias/L				
5 Ud. $\log_{10}$ copias/L				

seguimiento de la infección en la población como el que se muestra en la figura 4.

Figura 4. Mapa de seguimiento del estado de la infección en función de la concentración de la carga vírica y de su variación respecto a la muestra de la semana anterior.

# Conclusiones

En el presente trabajo se ha definido un protocolo de muestreo para desarrollar un sistema de vigilancia y alerta temprana de presencia de SARS-CoV-2 en pequeñas y medianas poblaciones de la provincia de Badajoz, demostrándose que en las fases de ascenso de la incidencia acumulada durante la segunda y la tercera ola de contagios sufrida en España se ha conseguido seguir y anticipar el comportamiento de la epidemia en dichos núcleos.

Igualmente, se ha aplicado un análisis basado en riesgo sobre los datos recogidos, generándose un ábaco para facilitar la interpretación de los resultados de ARN de SARS-CoV-2 medidos sobre agua residual en función de la tendencia de la incidencia en las poblaciones,

Así, basándose en que dicho ábaco y protocolo de muestreo ha resultado efectivo en el seguimiento de la COVID-19 en pequeñas poblaciones, la metodología será empleada para el seguimiento de otros parámetros e igualmente, se aplicará para alerta temprana de las nuevas cepas del virus.

# Bibliografía

Yao, H., Song, Y., Chen, Y., Wu, N., Xu, J., Sun, C., Zhang, J., Weng, T., Zhang, Z., Wu, Z., Cheng, L., Shi, D., Lu, X., Lei, J., Crispin, M., Shi, Y., Li, L., Li, S. 2020. "Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus". *Cell*, 183, 730-738.

Gu, J., Han, B., Wang, J. 2020, "COVID-19: gastrointestinal manifestations and potential fecal-oral transmission". *Gastroenterology*, 158, 1518-1519.

Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., Liu, T., Li, X., Shan, H. 2020. "Evidence for gastrointestinal infection of SRAS-CoV-2". *Gastroenterology*, 158, 1831-1833.

Zhou, N. A., Tharpe, C., Meschke, J. S., Ferguson, C. M. 2021. "Survey of rapid development of environmental surveillance method for SARS-CoV-2 detection in wastewater". *Science of the Total Environment*, 769.

Ahmed, W., Bivins, A., Bertsch, P. M., Bibby, K., Choi, P. M., Farkas, K., Gyawali, P., Hamilton, K. A., Haramoto, E., Kitajuma, M., Simpson, S. L., Tandukar, S., Thomas, K. V., Mueller, J. 2020. "Surveillance of SARS-CoV-2 RNA in wastewater: Methods optimization and quality control are crucial for generating reliable public health information". *Environmental Science & Health*, 17.

Randazzo, W., Truchado, P., Allende, A., Sánchez, G. 2020. "Protocolo para la detección de SARS-CoV-2 en aguas residuales". VIARAL-CSIC.

[https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/protocolo-sars-cov-2-iata-cebas-csic\\_tcm30-517282.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/concesiones-y-autorizaciones/protocolo-sars-cov-2-iata-cebas-csic_tcm30-517282.pdf)

Foladori, P., Cutrupi, F., Segata, N., Manara, S., Pinto, F., Malpei, F., Bruni, L., La Rosa, G. 2020. "SARS-CoV-2 from faeces to wastewater treatment. What do we know? A review". *Science of the Total Environment*, 743.

Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., Niemeyer, D., Jones, T. C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., Wendtner, C. 2020, “*Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019*”. *Nature*, 581, 468-469.

Medema, G., Hiejnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., Brouwer, A. 2020. “*Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherland*”. *Environ. Sci. Technol. Letter to the editor*.

D’Aoust P. M., Mercier, E., Montpetit, D., Jia, J-J., Alexandrov, I., Neault, N., Baig, A. T., Mayne, J., Zhang, X., Alain, T., Langlois, M-A., Servos, M. R., MacKenzie, M., Figeys, D., MacKnezie, A. E., Graber, T. E., Delatolla, R. 2020. “*Quantitative analysis of SARS-CoV-2 RNA from wastewater solids in communities with low COVID-19 incidence and prevalence*”. *Water Research*, 188.

Peccia, J., Zulli, A., Brackney, D. E., Grubaugh, N. D., Kaplan, E. H., Casanovas-Massana, A., Ko, A. I., Malik, A. A., Wnag, M., Warren, J. L., Wienberger, D. M., Arnold, W., Omer, S. B. 2020. “*Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater track community infection dynamics*”, *Nat. Biotechnology*, 38, 1164-1167.

Balboa, S., Mauricio-Iglesias, M., Rodríguez, S., Martínez-Lamas, L., Vasallo, F. J., Regueiro, B., Lema, J. M. 2021. “*The fate of SARS-CoV-2 in WWTPS point out the sludge line as suitable spot for detection of COVID-19*”. *Science of the Total Environment*.

Chan, K. H., Sridhar, S., Zhang, R. R., Chu, H., Fung A. Y. F., Chan, G., Chan, J. F. W., To, K. K. W. Hung, I. F. N., Cheng, V. C. C., Yuen, K. Y. 2020. “*Factor affecting stability and infectivity of SARS-CoV-2*”. *Journal of Hospital Infection*, 106, 226-231.

Hokajärvi, A. M., Rytönen, A., Tiwari, A., Kauppinen, A., Oikarinen, S., Lehto, K. M., Kankaanpää, A., Gunnar, T., Al-Hello, H., Blomqvist, S., Miettinen, I. T., Savolainen-kopra, C., Pitkänen, T. 2021. “*The detection and stability of the SARS-CoV-2 RNA biomarkers in wastewater influent in Helsinki, Finland*”. *Science of the Total Environment*.

Moreira, L. V., Luna, L., Barbosa, G., Perona, A., Chaves, A. P., Conte, D., Carvalho, J. M. Bellei, N. 2020. “*Test on stool simples improves the diagnosis of hospitalized patient: Detection of SARS-CoV-2 genominc and subgenomic RNA*”. *Journal of Infection. Letter to the Editor*.

Miura, F., Kitajima, M., Omori, R. 2021. “*Duration of SARS-CoV-2 viral shedding in faeces as a parameter for wastewater-based epidemiology: Re-analysis of patient data using a shedding dynamics model*”. *Science of the Total Environment*, 769.

Cevik, M., Tate, M., Lloyd, O., Maraolo, A. E., Shafr, J., Ho, A. 2021. “*SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis*”. *Lacet Microbe*, 2, 13-22.

Hamouda, M., Mustafa, F., Maraqa, M., Rizvi, T., Hassan, A. A. 2020. “*Wastewater surveillance for SARS-CoV-2: Lessons learn from recent studies to define future applications*”. *Science of the Total Environment*.

Cervantes-Avilés, P., Moreno-Andrade, I., Carrillo-Reyes, J. 2021. “*Approaches applied to detec SARS-CoV-2 in wastewater and perspectives post-COVID 19*”. *Journal of Water Process Engineering*, 40.



# MONITOREO DE AGUAS RESIDUALES DEL SARS-COV-2

Armando Quazzo  
Società Metropolitana Acque Torino S.p.A.

SMAT es una sociedad anónima de participación pública que garantiza la prestación del Servicio Hídrico Integrado de Agua en 290 Municipios de la Ciudad Metropolitana de Turín sobre una superficie de 6.292 km<sup>2</sup> a beneficio de más de 2,2 millones de habitantes.

El servicio hídrico integrado incluye las actividades de captación, depuración, distribución de agua potable, recuperación de agua usada a través de la red de alcantarillado y depuración de aguas residuales en las plantas de depuración y reutilización.

SMAT gestiona 2.773 km de red de alcantarillado y 409 depuradoras, incluida la de Castiglione Torinese, la más grande de Italia y la quinta de Europa con un caudal medio diario de 600.000 metros cúbicos y un potencial máximo de 3,8 millones de habitantes equivalentes.

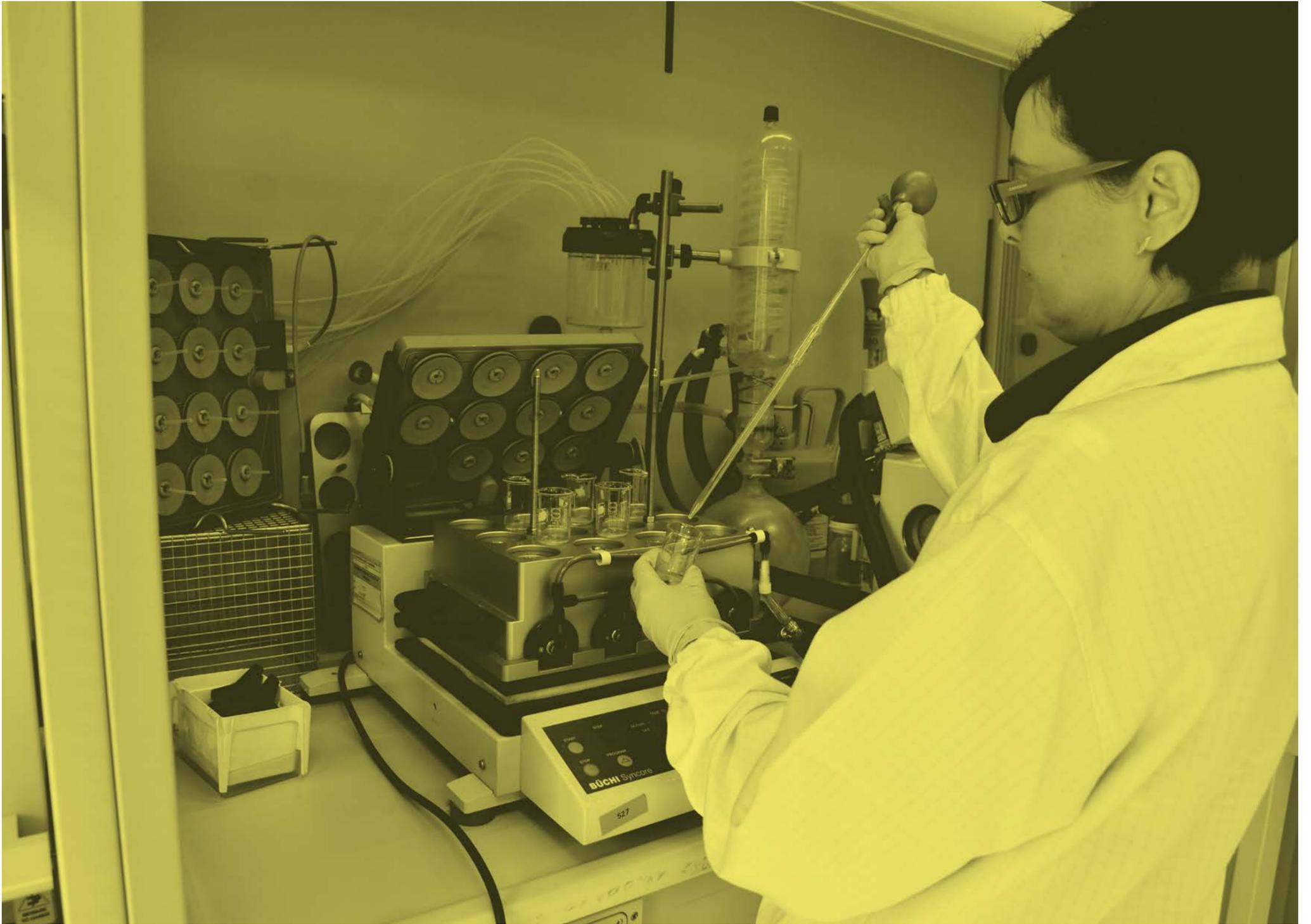
En 2008, SMAT inauguró su Centro de Investigación con el objetivo de desarrollar proyectos innovadores a través de estudios y experimentos que contribuyeran al crecimiento y mejora del sector del agua. En dicho Centro trabajan actualmente 100 personas repartidas entre analistas y expertos de la industria que utilizan tecnologías avanzadas y estudios para generar ideas, proyectos y productos innovadores. En este año, el Centro de Investigación SMAT está llevando a cabo 39 proyectos de investigación de los cuales dos están financiados por Horizon 2020.

En las aguas residuales de Turín ya había rastros del virus SARS-CoV-2 desde el mes de diciembre de 2019.

Así lo descubrió un estudio que está publicando el Istituto Superiore di Sanità (ISS) realizado a través

del análisis de las aguas residuales recogidas en épocas anteriores a la aparición del COVID-19 en Italia. Las muestras tomadas en las depuradoras de los centros urbanos del norte de Italia, incluida la de Castiglione Torinese, se utilizaron como 'espía' para la circulación del virus en la población.

Los análisis realizados por ISS (Istituto Superiore di Sanità) examinaron 40 muestras de aguas residuales recolectadas desde octubre de 2019 hasta febrero de 2020 y 24 muestras de control para las cuales la fecha de muestreo (septiembre de 2018 - junio de 2019) permitió excluir con certeza la presencia de virus. Los resultados, confirmados en los dos laboratorios diferentes con dos métodos diferentes, mostraron la presencia de ARN del SARS-Cov-2 en las muestras tomadas en Turín y Milán el 18/12/2019 y en Bolonia el 29/01/2020. Se encontraron muestras positivas en las mismas ciudades también en los siguientes meses de enero y febrero de 2020, mientras que las muestras de octubre y noviembre de 2019, así como todas las muestras de control, dieron resultado negativo. Los resultados obtenidos confirman la evidencia consolidada ahora a nivel internacional sobre la función estratégica de monitorear el virus en muestras tomadas regularmente en el alcantarillado a en la entrada a las plantas de tratamiento, como una herramienta capaz de detección temprana y monitoreo de la circulación del virus en el diversos territorios, apoyando la información básica de la vigilancia microbiológica y epidemiológica integrada.







Cabe señalar que el descubrimiento del virus no implica automáticamente que las principales cadenas de transmisión que luego propiciaron el desarrollo de la epidemia en nuestro país se originaron precisamente a partir de estos primeros casos, sino, en perspectiva, una red de vigilancia en el territorio. puede resultar valioso para controlar la epidemia y su curva evolutiva.

El Istituto Superiore di Sanità (ISS) está desarrollando una Red Nacional de Vigilancia Ambiental que se encargará de la tarea de predecir la prevalencia de COVID-19 en la población italiana y esta red opera dentro de la “Vigilancia Ambiental del SARS-CoV-2” a través de aguas residuales urbanas en Italia: indicaciones sobre la tendencia epidémica y alerta temprana.

Una serie de actores forman parte de la Red Nacional de Vigilancia Ambiental, entre los que se encuentran ARPA Piemonte (Agencia Regional de Protección Ambiental) y SMAT en su rol de operador del servicio integral de agua y específicamente el administrador de un número significativo de plantas de tratamiento de aguas residuales, agua incluyendo algunas plantas ya identificadas dentro de la Red Nacional.

SMAT transfiere a ARPA las muestras de residuos urbanos recogidas en 3 depuradoras ubicadas respectivamente en Bardonecchia, Castiglione Torinese y Collegno: la primera planta se ubica en una zona con alta vocación turística y a través de ella se podrá monitorizar la dinámica de propagación del virus especialmente en presencia de flujos de no residentes.

La presencia del virus en un número significativo de ciudades del cinturón de Turín se controlará a través de la planta de Collegno, mientras que los controles de las aguas residuales de la planta centralizada de Castiglione garantizarán la investigación de la ciudad de Turín y de una treintena de municipios miembros de SMAT.







Asociación Española de Operadores  
Públicos de Abastecimiento y Saneamiento