

DETECCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DEL SARS-COV-2 Y FÁRMACOS EN AGUAS RESIDUALES

GERMÁN BUITRÓN MENDEZ, JULIÁN CARRILLO REYES, MARTÍN BARRAGÁN TRINIDAD, ROSA MARÍA RAMÍREZ ZAMORA, LUIS ALEJANDRO DÍAZ FLORES Y FLOR LIZETH TORRES ORTIZ

Las enfermedades forman parte de la historia de la humanidad de manera intrínseca. Desde que el ser humano empezó a organizarse en núcleos de población, las enfermedades infecciosas han sido más relevantes. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades diarreicas transmitidas por el agua representan aproximadamente 1700 millones de casos infantiles anualmente que resultan en medio millón de muertes, en niños menores de cinco años (OMS, 2017). Una proporción significativa de estas enfermedades es causada por infecciones virales. En diciembre de 2019, se reportó un brote de una enfermedad infecciosa causada por coronavirus en Wuhan (China). Los coronavirus son un tipo de virus de ácido ribonucleico (ARN) con envoltura proteica y lipídica que pueden causar enfermedades tanto en animales como en humanos. En los humanos, se sabe que algunos coronavirus causan infecciones respiratorias. A nivel mundial, al 24 de agosto de 2020, se reportaban cerca de 23.5 millones de personas enfermas y sobre 811 mil fallecidos (JHU, 2020) como causa de la enfermedad por coronavirus iniciada en 2019: COVID-19. Actualmente, la COVID-19 ha ocasionado una pandemia que afecta prácticamente a todo el mundo. Esta enfermedad es causada por el coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2).

La OMS reconoce la relación directa que existe entre el saneamiento de aguas residuales y la salud pública, principalmente en el control de patógenos y sustancias tóxicas. La centralización de las aguas residuales en plantas de tratamiento, como ocurre en las ciudades, ofrece ventajas más allá de su tratamiento. En años recientes, se ha propuesto el término *epidemiología basada en aguas residuales*, para llevar a cabo el monitoreo de diversas sustancias de interés en salud pública. De esta manera, es posible el monitoreo del uso de drogas ilícitas, presencia de fármacos, así como la exposición de la población a contaminantes y patógenos (Jia y Zhang, 2020).



Figura 1. Campaña de muestreo en diferentes plantas de tratamiento de aguas de la Ciudad de Querétaro por personal de la UA Juriquilla del Instituto de Ingeniería. Se analiza la presencia del virus SARS-CoV-2, a partir de su material genético, en diferentes etapas del tren de tratamiento (agua cruda, lodos activados y agua tratada)

De esta forma, el monitoreo de los cambios en la concentración y diversidad de virus excretados por la población, en combinación con el monitoreo de metabolitos y biomarcadores presentes en las aguas residuales, puede servir como un indicador de alerta temprana (momentos críticos para el inicio de un brote) y sobre la prevalencia de enfermedades en las poblaciones (Elmahdy *et al.*, 2019). Recientemente, se ha propuesto el monitoreo del SARS-CoV-2 en aguas residuales para determinar las tendencias de propagación de la COVID-19. Este monitoreo podría generar información rápida para estimar el riesgo de brotes importantes en determinadas regiones (lugares críticos para el inicio de un brote), superando las limitaciones de los sistemas tradicionales de detección y manejo de enfermedades infecciosas basados en las pruebas de diagnóstico que se aplican a personas (Daughton, 2020; Sims *et al.*, 2020).

La determinación del SARS-CoV-2 en aguas residuales se lleva a cabo por medio de técnicas de biología molecular (RT-qPCR cuantitativa) basadas en la amplificación de secuencias específicas del ARN del virus (Lodder y de Roda Husman, 2020 y Medema *et al.*, 2020).

Con el fin de realizar este monitoreo rápido, hay varios retos a superar, debido a que, actualmente, sólo hay relativamente pocos reportes sobre el monitoreo sistemático del SARS-CoV-2 en aguas residuales (Lodder y de Roda Husman,

2020). De esta forma, es necesario poner a punto una metodología para concentrar el SARS-CoV-2, determinar y eliminar las interferencias que pueden afectar su detección en muestras de aguas residuales.

Un factor que no ha sido muy estudiado es la presencia de los fármacos utilizados para el tratamiento de la COVID-19. La mayoría de los fármacos permanecen en las aguas residuales, sin embargo, los métodos convencionales de purificación y clarificación del agua residual no remueven dichas sustancias. Algunos compuestos utilizados para el tratamiento de la enfermedad como la azitromicina, indometacina, hidroxiquina y paracetamol, tienen una vida media relativamente larga en el ambiente, lo que favorece la permanencia de éstos en el agua tratada y en el ambiente (Caban, 2018), esto podría influir en la estabilidad ambiental del SARS-CoV 2.

Algunos de los fármacos utilizados para el tratamiento de la COVID-19 han demostrado actividad antiviral en estudios *in-vitro* e *in-vivo* (Gautret *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2020 y Amici *et al.*, 2020), por lo que su determinación precisa en las aguas residuales puede brindar información sobre su actividad antiviral a partir de la relación metabolito/fármaco. Dicha relación, se puede aplicar como un indicador cualitativo y cuantitativo que permita elucidar la ruta de biotransformación del fármaco después de su actividad antiviral contra el SARS-CoV-2.

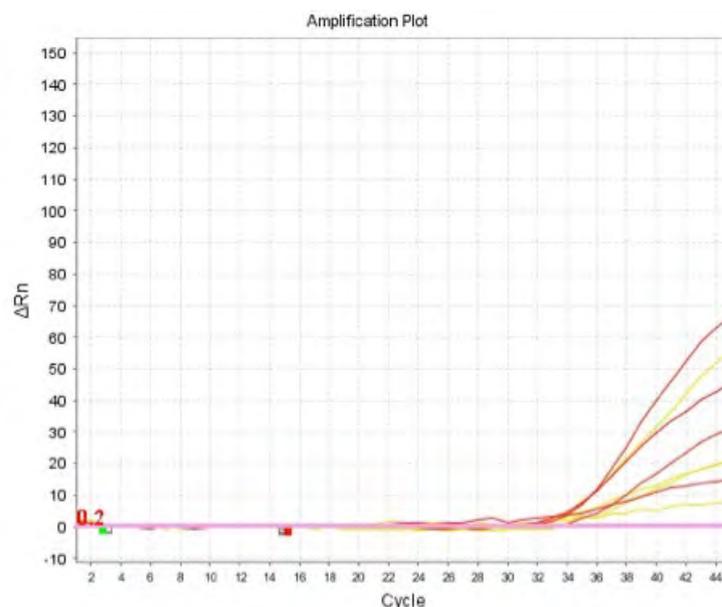


Figura 2. Amplificación positiva de los genes ORF1ab y S Protein del virus SARS-CoV-2 en ARN de lodos activados en una planta de tratamiento de aguas de la Ciudad de Querétaro

De igual manera, es necesario desarrollar una relación que permita inferir el número de infectados en una población a partir de la concentración del virus en la muestra de agua residual, de esta manera, monitorear el aumento o disminución de la enfermedad en una comunidad. Para ello, es necesario formular un modelo matemático que aproxime la relación de dependencia entre la variación temporal de la concentración de los fragmentos genéticos de SARS-CoV2 en muestras de aguas residuales con el número de infectados. Este modelo podría utilizarse para predecir la etapa inicial de futuros brotes en zonas asociadas a los puntos donde convergen los sistemas de drenaje (Peccia *et al.*, 2020). Otra aplicación del modelado se encuentra en correlacionar de los fragmentos genéticos de SARS-CoV2 en las muestras de aguas residuales, la concentración de fármacos utilizados para su tratamiento y la presencia de sus metabolitos con el número de infectados.

Considerando lo anterior, se formó un grupo de trabajo en el Instituto de Ingeniería para desarrollar herramientas de alerta temprana en torno a la COVID-19 y para el monitoreo de fármacos asociados a esta enfermedad que se encuentran como microcontaminantes en las aguas residuales, de tal forma que

usuarios finales como la Comisión Nacional del Agua y Organismos Operadores de Agua en el país puedan utilizar.

Desde mediados de abril 2020, académicos de la Unidad Académica Juriquilla, han llevado a cabo un muestreo en plantas de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Querétaro. En el laboratorio se han analizado diferentes condiciones para la concentración de muestras de agua, así como diferentes métodos de extracción del ARN. El objetivo es recuperar el ARN viral en condiciones adecuadas para su correcta cuantificación con las técnicas moleculares. Se ha logrado la amplificación de genes del virus SARS-CoV-2 en las muestras de las plantas de tratamiento, confirmando la presencia del material genético del virus. Se está trabajando en la optimización del método de cuantificación, principalmente para eliminar inhibidores de la reacción de amplificación que están presentes en el agua residual, aplicando metodologías de purificación y limpieza del material genético. Esta implementación del método es crucial, ya que uno de los problemas más comunes de las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales es el aporte de aguas industriales con presencia de sustancias químicas que podrían afectar la detección del material genético durante la prueba. |

Referencias

- Amici, C.; Di Caro, A.; Ciucci, A. et al. (2006). Indomethacin Has a Potent Antiviral Activity Against SARS Coronavirus. *Antiviral Therapy*, 11, 1021-30.
- Caban, M. (2018). Silylation of acetaminophen by trifluoroacetamide-based silylation agents. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 154, 433-437.
- Daughton, C. (2020). The international imperative to rapidly and inexpensively monitor community-wide Covid-19 infection status and trends. *Science of The Total Environment*, 726,138149.
- Elmahdy, E. M.; Ahmed, N. I.; Shaheen, M. N.; Mohamed, E. C. B. y Loutfy, S. A. (2019). Molecular detection of human adenovirus in urban wastewater in Egypt and among children suffering from acute gastroenteritis. *Journal of water and health*, 17(2), 287-294.
- Gautret, P.; Lagier, J. C.; Parola, P.; Meddeb, L.; Mailhe, M.; Doudier, B. y Honoré, S. (2020). Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International Journal of antimicrobial agents*, 105949.
- Jia, S. y Zhang, X. (2020). Biological HRP in wastewater. In *High-Risk Pollutants in Wastewater*. Elsevier, 41-78.
- Johns Hopkins University (2020). COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). Accesado el 11 de junio de 2020. <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- Lodder, W. y de Roda Husman, A. M. (2020). SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 5 (6), 533-534.
- Medema G.; Heijnen L.; Elsinga G.; Italiaander R. y Brouwer A. (2020). Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage. *medRxiv*, doi:10.1101/2020.03.29.20045880.
- Organización Mundial de la Salud (2017). Nota descriptiva. Accesado el 4 de junio de 2020. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
- Peccia, J.; Zulli, A.; Brackney, D. E.; Grubaugh, N. D.; Kaplan, E. H.; Casanovas-Massana, A. y Weinberger, D. M. (2020). SARS-CoV-2 RNA concentrations in primary municipal sewage sludge as a leading indicator of COVID-19 outbreak dynamics. *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.05.19.20105999>.
- Sims, N. y Kasprzyk-Hordern, B. (2020). Future Perspectives of Wastewater-Based Epidemiology: Monitoring Infectious Disease Spread and Resistance to the Community Level. *Environment International*, 139, 105689.
- Xu T.; Gao X; Wu Z *et al.* (2020). Indomethacin has a potent antiviral activity against SARS CoV-2 in vitro and canine coronavirus in vivo. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.04.01.017624>.