

NOTA TÉCNICA

Contribuição para a elaboração de planos de monitoramento da ocorrência do novo coronavírus no esgoto



MONITORAMENTO
COVID ESGOTOS



Sumário

APRESENTAÇÃO	1
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 CONCEPÇÃO DE PLANOS DE MONITORAMENTO.....	2
2.1 PRELIMINARES	2
2.2 DISPONIBILIDADE DE INFRAESTRUTURA LABORATORIAL	2
2.3 DISPONIBILIDADE DE MAPA DA MALHA URBANA DA CIDADE	3
2.4 DEFINIÇÃO DOS PONTOS DE AMOSTRAGEM DO ESGOTO	3
2.4.1 <i>Objetivo pretendido com o estudo</i>	3
2.4.2 <i>Escolha dos pontos de amostragem considerando o primeiro objetivo</i>	4
2.4.3 <i>Escolha dos pontos de amostragem considerando o segundo objetivo</i>	7
2.4.4 <i>Definição das equipes de campo para coleta das amostras</i>	8
2.4.5 <i>Locação dos pontos de amostragem em campo</i>	8
2.5 COLETA, PRESERVAÇÃO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS DE ESGOTO.....	9
2.6 RECEBIMENTO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS NO LABORATÓRIO	12
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	12
4 AGRADECIMENTOS	13
5 REFERÊNCIAS	13

Contribuição para a elaboração de planos de monitoramento da ocorrência do novo coronavírus no esgoto

Carlos Augusto de Lemos Chernicharo¹, Cesar Rossas Mota Filho¹, Diana Leite Cavalcanti², Juliana Calábria de Araújo¹, Livia Cristina Silva Lobato¹, Lucas de Almeida Chamhum Silva¹, Marcus André Fuckner², Marcus Tullius de Paula Reis³, Sérgio Rodrigues Ayrimoraes², Thiago Bressani Ribeiro¹

⁽¹⁾INCT ETEs Sustentáveis/UFGM; ⁽²⁾Agência Nacional de Águas; ⁽³⁾Companhia de Saneamento de Minas Gerais

APRESENTAÇÃO

Essa Nota Técnica foi elaborada tomando por base um dos protocolos que estão sendo desenvolvidos no âmbito do *Projeto-piloto: Detecção e quantificação do novo coronavírus em amostras de esgoto nas cidades de Belo Horizonte e Contagem*, que é uma iniciativa conjunta da Agência Nacional de Águas (ANA) e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis - UFGM), em parceria com a Companhia de Saneamento de Minas Gerais (Copasa), o Instituto Mineiro de Gestão das Águas de Minas Gerais (Igam) e a Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES).

A Nota Técnica busca contribuir para o estabelecimento de diretrizes de interesse para a elaboração de planos de monitoramento do esgoto para a detecção do novo coronavírus de forma regionalizada, com foco na realidade de países em desenvolvimento. As diretrizes propostas nessa Nota Técnica se baseiam na experiência recente com o desenvolvimento do projeto piloto em referência.

1 INTRODUÇÃO

O monitoramento epidemiológico baseado no esgoto é conhecido desde a década de 1940. Foi utilizado inicialmente no enfrentamento da epidemia de poliomielite, nos Estados Unidos, mas ainda hoje é usado amplamente em várias partes do mundo, incluindo o Brasil, para detectar a recorrência do poliovírus (causador da poliomielite). Embora seja uma ferramenta conhecida há várias décadas, voltou a ficar em evidência desde março de 2020, quando o novo coronavírus foi detectado em amostras de esgoto na Holanda (Medema *et al.*, 2020).

O mapeamento da ocorrência do novo coronavírus a partir do monitoramento do esgoto coletado na entrada das estações de tratamento de esgoto (ETEs) vem se mostrando uma *ferramenta de vigilância epidemiológica* de grande importância para o entendimento e controle da Covid-19 nos países desenvolvidos. Os dados obtidos a partir do monitoramento deste vírus no esgoto têm se mostrado essenciais para uma visão mais ampla de sua ocorrência e circulação na comunidade (Ahmed *et al.*, 2020). Quando combinados com os dados existentes de testes clínicos de pacientes, têm o potencial de auxiliar no estabelecimento de diretrizes para o enfrentamento da doença na comunidade em estudo.

Essa ferramenta pode ser ainda mais relevante para países em desenvolvimento, como o Brasil, desde que a concepção do estudo de monitoramento não fique limitada ao monitoramento do esgoto somente na entrada das ETEs, mas contemple também o monitoramento em pontos das redes coletoras e dos interceptores do sistema de esgotamento sanitário. Isso porque, nos países

em desenvolvimento, é bastante usual que uma parcela significativa do esgoto gerado não chegue às ETEs, impossibilitando que os dados do monitoramento possam ser extrapolados para a cidade como um todo, seja em decorrência da ausência de redes coletoras, ou da falta de interligações das redes coletoras às ETEs. Logo, existe a necessidade de que o monitoramento seja feito de forma regionalizada, de modo que se possa inferir, de forma indireta, o número de pessoas infectadas nas áreas de maior interesse. Uma espécie de “testagem indireta”, que inclui tanto os portadores sintomáticos quanto os assintomáticos da Covid-19. Essa informação é de extrema importância no contexto brasileiro, devido ao número bastante reduzido de testagens clínicas e as desigualdades sociais e de acesso a soluções de saneamento.

2 CONCEPÇÃO DE PLANOS DE MONITORAMENTO

2.1 Preliminares

A concepção do plano de monitoramento considerou não apenas a coleta de amostras de esgoto na entrada e na saída das ETEs, como vem sendo reportado na maior parte dos estudos divulgados até o momento (Ahmed *et al.*, 2020; Medema *et al.*, 2020; Nemudry *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2020; Wuertzer *et al.*, 2020), mas avançou no sentido de *monitorar o esgoto de forma regionalizada*, em pontos representativos de diferentes estratos sociais da população e também de alguns *hot spots*, a exemplo dos hospitais de referência para tratamento da Covid-19. Entendemos que essa é a estratégia mais adequada para países como o Brasil, uma vez que o monitoramento do esgoto apenas nas ETEs não é suficiente para identificar a magnitude da circulação do vírus na cidade como um todo. Ademais, é essencial monitorar o esgoto gerado pela parcela da população que vive em áreas mais vulneráveis, cujos esgotos, em sua quase totalidade, não chegam às ETEs, seja em decorrência da ausência de redes coletoras, ou da falta de interligação das redes coletoras às ETEs.

Para a concepção de um plano de amostragem e mapeamento da ocorrência do novo coronavírus no esgoto, é imperioso assegurar a distribuição regionalizada e representativa dos pontos de monitoramento, considerando os elementos principais indicados a seguir.

2.2 Disponibilidade de infraestrutura laboratorial

A disponibilidade de laboratório especializado e pessoal técnico qualificado para a realização das análises para detecção e quantificação do novo coronavírus é essencial para o desenvolvimento do estudo. Além da infraestrutura laboratorial, deve ser ainda avaliada a capacidade de processamento (ex. número de análises por semana) e, obviamente, a disponibilidade de recursos financeiros para a aquisição dos insumos necessários à realização das análises. Importante destacar que o custo estimado, por análise (considerando apenas os reagentes e duas repetições para cada amostra), tem variado entre 350 e 450 reais (60 a 80 USD).

A partir da capacidade de processamento da infraestrutura laboratorial e dos recursos financeiros disponíveis, tem-se a primeira informação essencial para a elaboração do plano de monitoramento, que é o número máximo de pontos de amostragem que constará do plano. Notar que esse número também dependerá da logística de coleta em campo, conforme destacado nos itens 2.4 e 2.5.

2.3 Disponibilidade de mapa da malha urbana da cidade

O mapa da malha urbana atendida pelo sistema de esgotamento sanitário deverá conter os seguintes elementos principais:

- a) traçado da rede coletora e dos interceptores (secundários e principais), a ser obtido com a concessionária de esgotamento sanitário local.
- b) delimitação das sub-bacias de esgotamento sanitário, relacionadas a cada um dos interceptores secundários do sistema de esgotamento existente.
- c) informações sobre os diferentes índices de vulnerabilidade por área da malha urbana (social, socioeconômica, da saúde), a ser obtido com o poder público local.
- d) localização de hospitais de referência para tratamento da Covid-19 (públicos e particulares) e postos de saúde; locais de elevada concentração de pessoas (ex. escolas, shopping centers, rodoviárias, aeroportos).

Mesmo que nem todos os elementos mencionados anteriormente estejam disponíveis, ainda assim a disponibilização do mapa da malha urbana é imprescindível para a elaboração do plano de monitoramento. Minimamente, o traçado e a área de esgotamento dos interceptores secundários (área de contribuição para as sub-bacias de esgotamento sanitário) deverão ser disponibilizados. A partir da área de esgotamento de cada interceptor, poderá ser estimada a população contribuinte, assim como a vazão de esgoto no ponto de monitoramento escolhido. Essas duas informações (população e vazão) podem ser obtidas a partir do projeto do interceptor objeto do estudo. A vazão pode ainda ser estimada a partir da medição do diâmetro e da lâmina d'água na tubulação, e da velocidade do fluxo de esgoto no ponto amostrado ou da verificação da declividade do tubo em projeto.

Notar que tanto a vazão quanto a população total interligada à área de esgotamento de cada interceptor secundário são essenciais para os cálculos das cargas virais e das estimativas dos percentuais de pessoas portadoras do vírus em cada região.

2.4 Definição dos pontos de amostragem do esgoto

2.4.1 *Objetivo pretendido com o estudo*

O plano de monitoramento deve refletir o objetivo que se pretende atingir com o estudo:

- i. identificação de tendências / alterações de ocorrência do vírus ao longo da curva epidêmica, nas diferentes regiões estudadas.
- ii. alerta precoce do início (ou incremento súbito) da circulação do vírus em locais de maior concentração de pessoas.

Enquanto o primeiro objetivo busca fornecer informações para o entendimento da prevalência e da dinâmica de circulação do vírus nas diferentes regiões estudadas (áreas representativas de diferentes estratos sociais e índices de vulnerabilidade), o segundo objetivo busca fornecer informações que subsidiem alertas precoces da presença do vírus, contribuindo para melhorar a resposta face a eventuais novos surtos da doença. Nesse sentido, o plano de monitoramento pode ser concebido para atender a apenas um ou aos dois objetivos, a depender da evolução do número de casos suspeitos/confirmados e da realidade de cada local.

2.4.2 Escolha dos pontos de amostragem considerando o primeiro objetivo

Nesse caso, a escolha dos pontos de amostragem de esgoto deve ser representativa dos diferentes estratos de classes sociais e índices de vulnerabilidade da população cujos esgotos são coletados e direcionados para o sistema de esgotamento sanitário. Deve-se buscar a maior homogeneidade possível dentro de uma mesma área (sub-bacia de contribuição) e, sempre que possível, a seleção de áreas que sejam representativas do conjunto da malha urbana amostrada.

Cabe ressaltar que a escolha dos pontos de amostragem é influenciada pelo arranjo espacial do sistema de coleta e interceptação de esgoto, conforme exemplificado na Figura 1 e descrito a seguir:

- O traçado perpendicular (Fig. 1-a) é típico de malhas urbanas que se desenvolvem ao longo de um curso d'água principal, o que usualmente resulta na necessidade de coletores tronco com traçado perpendicular ao interceptor. Para esse tipo de traçado, a escolha mais lógica dos pontos de amostragem é coincidente com o último poço de visita do coletor tronco, antes do lançamento no interceptor principal.
- O traçado em leque (Fig. 1-b) é a configuração predominante em cidades com terrenos acidentados, nas quais existem diversas sub-bacias de drenagem com coletores tronco ou interceptores nos fundos dos vales. Nesse caso, os pontos de amostragem são usualmente os poços de visita localizados mais a jusante dos coletores tronco ou interceptores secundários de cada uma das sub-bacias que representam as áreas de interesse a serem amostradas.
- O traçado distrital ou radial (Fig. 1-c), por sua vez, é comum em cidades planas (ex. cidades litorâneas), nas quais a malha urbana é dividida em setores independentes e que usualmente fazem uso de elevatórias de esgoto ou de sistemas descentralizados de tratamento de esgoto. Esse tipo de traçado é, possivelmente, o que resulta no plano de monitoramento mais simples e econômico, uma vez que os pontos de amostragem podem ser coincidentes com as estações elevatórias de esgoto ou ETEs descentralizadas. A localização dos pontos de monitoramento junto a essas unidades facilita enormemente a coleta das amostras de esgoto, conforme discutido adiante.

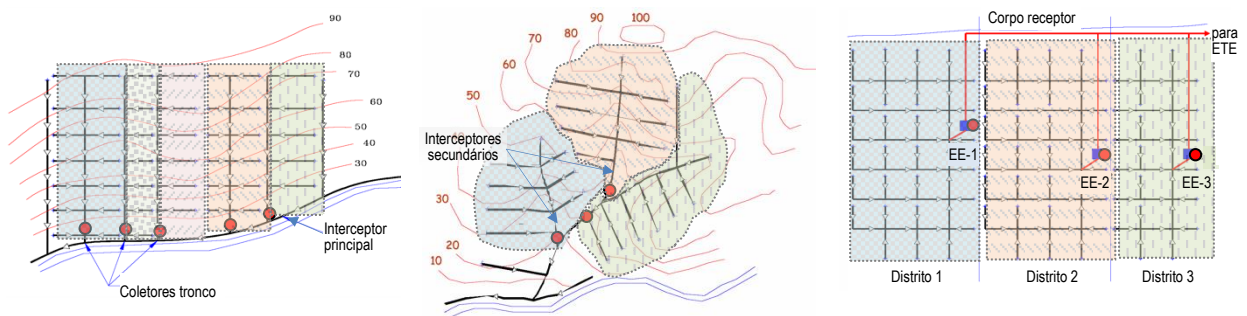


Figura 1: Tipos de traçado de redes coletoras e interceptores: (a) Traçado perpendicular; (b) Traçado em leque; (c) Traçado distrital. Adaptado de Tsutiya e Alem Sobrinho (1999).

Finalmente, deve-se avaliar a conveniência de inclusão de pontos de coleta de amostras de esgoto representativas de hospitais e locais de elevada concentração de pessoas, a fim de se ter mais elementos para a interpretação dos resultados obtidos a partir do monitoramento da malha urbana

atendida pelo sistema de esgotamento sanitário objeto do estudo. A conveniência de se incluir ou não esses locais específicos depende de uma série de fatores, conforme discutido a seguir:

- Os hospitais de referência para tratamento da Covid-19 são sabidamente *hot spots* para o vírus, mas a detecção deste no esgoto hospitalar está mais associada aos pacientes internados na enfermaria do que na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Isso porque os excretas de pacientes em estado grave (internados na UTI) são recolhidos em fraldas, que são descartadas como resíduo hospitalar e não são lançados no vaso sanitário. Ou seja, a concentração do vírus no esgoto hospitalar depende fundamentalmente do número de pacientes que utilizam o vaso sanitário durante o período da amostragem (ver considerações sobre composição da amostra e período de amostragem no item 2.5).
- Conhecendo-se o número de pacientes com a Covid-19 internados na enfermaria, nos dias em que forem feitas as coletas de amostras de esgoto na rede coletora, pode-se inferir a carga viral decorrente do conjunto de pacientes, e ser comparada com a carga viral obtida para o restante da população que contribui com esgotos para o mesmo ponto de amostragem.
- O monitoramento do esgoto de locais de elevada circulação de pessoas (ex. escolas, shopping centers, rodoviárias, aeroportos) pode trazer informações importantes sobre a intensidade da circulação do vírus nesses locais. A utilização da informação como forma de "testagem indireta" seria mais apropriada para os locais em que fosse possível rastrear os frequentadores, a exemplo de alunos de uma determinada escola. A partir daí, poderiam ser feitas campanhas que incentivassem a testagem clínica das pessoas com suspeição da doença. Todavia, no contexto do objetivo 1, a maior relevância do resultado da ocorrência do vírus seria para auxiliar a tomada de decisão sobre o fortalecimento ou flexibilização das recomendações de isolamento social. O monitoramento do esgoto em locais de elevada circulação de pessoas pode ser uma ferramenta de grande relevância para alerta precoce de novos surtos da Covid-19 ou novas epidemias.

No projeto piloto Monitoramento COVID Esgotos, o plano de amostragem abrangeu os sistemas de esgotamento sanitário inseridos nas bacias hidrográficas dos ribeirões Arrudas e Onça, os quais envolvem todas as regionais de Belo Horizonte e parte importante do município de Contagem. Foram definidos 24 pontos de monitoramento do esgoto, sendo 12 em cada um dos sistemas de esgotamento sanitário. Do total de pontos monitorados, 22 são representativos do esgoto gerado pela população e pelos hospitais de referência para o tratamento da Covid-19 nestes dois sistemas de esgotamento sanitário. Os outros 2 pontos representam os efluentes das principais estações de tratamento de esgoto de cada sistema. Na Figura 2 é apresentada a distribuição dos pontos de amostragem que integram o plano de monitoramento dos dois sistemas de esgotamento sanitário. Na Tabela 1 são apresentadas a identificação e uma breve descrição das áreas de contribuição para as sub-bacias de esgotamento sanitário.

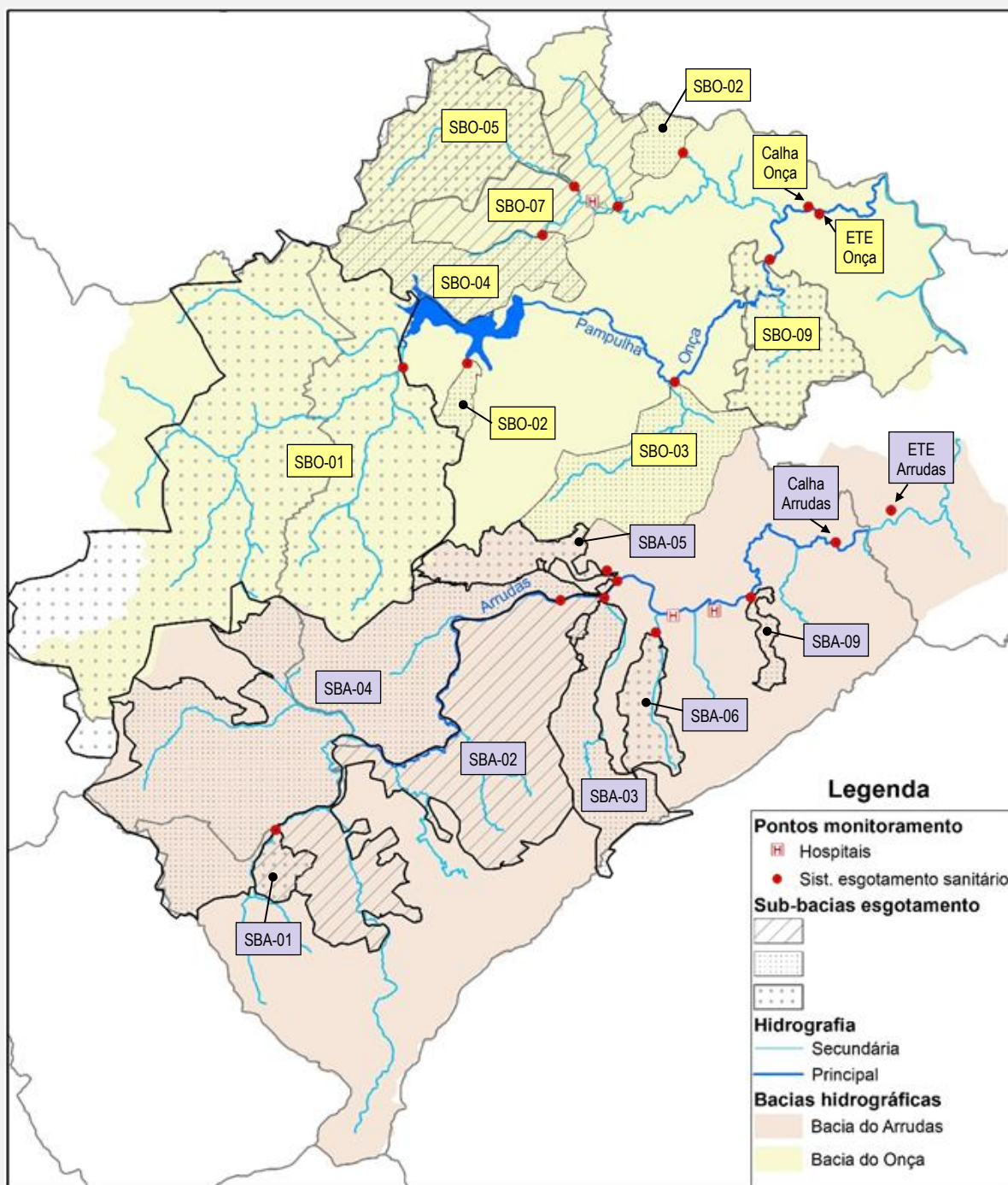


Figura 2: Plano de monitoramento elaborado para o projeto piloto de mapeamento da ocorrência, abundância e circulação do SARS-CoV-2 nas cidades de Belo Horizonte e Contagem, em Minas Gerais

Tabela 1: Identificação e breve descrição das regiões e sub-bacias de esgotamento sanitário para o projeto piloto de mapeamento da ocorrência, abundância e circulação do SARS-CoV-2 nas cidades de Belo Horizonte e Contagem, em Minas Gerais

Sub-bacia	Identificação	Descrição	Principais bairros/hospitais de referência
SBA-01	Córrego Jatobá	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Lindéia, Regina, Tirol, Jatobá
SBA-02	Córrego Pintos	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Grajaú, Salgado Filho, Gutierrez, Nova Suíça, Estrela Dalva, Bunitis
SBA-03	Córrego Leitão	Área reduzida, de baixa vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Belvedere, São Bento, Santa Lúcia, Luxemburgo, Santo Antonio, Cidade Jardim, Lourdes, parte área central
SBA-04	Rib. Arrudas (margem esquerda)	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Carlos Prates, Minas Brasil, Padre Eustáquio, Coração Eucarístico, João Pinheiro, Gameleira
SBA-05	Córrego Pastinho	Área reduzida, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Jardim Montanhês, Alto dos Caiçaras, Caiçara-Adelaide, Monsenhor Messias, Pedro II, Santo André, Carlos Prates, Bonfim
SBA-06	Córrego Acaba Mundo	Área reduzida, de baixa vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Sion, Santo Antônio, Savassi, Funcionários
SBA-07	HC	Caracterização de efluente hospitalar	Hospital das Clínicas
SBA-08	HU	Caracterização de efluente hospitalar	Hospital da Unimed
SBA-09	Córrego Cardoso	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Vila Cafezal, Paraíso, Santa Efigênia
SBA-10	Calha Arrudas	Ponto na calha do Ribeirão Arrudas, caracterização do curso d'água	Bairros sem interceptação de esgoto
SBA-11	Entrada ETE Arrudas	Entrada da ETE	Todos os bairros com coleta e interceptação de esgoto
SBA-12	Saída ETE Arrudas	Saída da ETE	
SBO-01	Córregos Ressaca/Sarandi	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Nova Pampulha, Xangrilá, Braunas, Dom Bosco, Sarandi, Serrano, Alípio de Melo, Santa Terezinha, Paquetá
SBO-02	Córregos Mergulhão/Tijuco	Área reduzida, de baixa vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Ouro Preto, Bandeirantes, Paquetá
SBO-03	Córrego Cachoeirinha	Área ampla, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Dom Joaquim, Fernão Dias, União, São Paulo, Sagrada Família, Cidade Nova, Santa Cruz, São João Batista, Palmares, Nova Floresta, Renascença, São Cristóvão, Nova Esperança, Aparecida, Ermelinda, Nova Cachoeirinha, Cachoeirinha, Ipiranga,
SBO-04	Córrego Santa Amélia	Área reduzida, de média vulnerabilidade da saúde, com baixa influência de hospitais	Itapoã, Jardim Atlântico, Leblon, Copacabana, Santa Amélia, Santa Branca
SBO-05	Córrego Vilarinho (montante HRN)	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Nova América, Jardim dos Comerciantes, Europa, Minas Caixa Venda Nova, Rio Branco, São João Batista, Piratininga
SBO-06	HRN	Caracterização de efluente hospitalar	Hospital Risoleta Neves
SBO-07	Córrego Vilarinho (jusante HRN) / Isidoro	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	Nova América, Jardim dos Comerciantes, Europa, Minas Caixa Venda Nova, Rio Branco, São João Batista, Piratininga, Julian Vila Clóris, Hospital Risoleta Neves
SBO-08	Córrego Terra Vermelha	Área reduzida, de vulnerabilidade da saúde muito elevada e com baixa influência de hospitais	Zilah Spósito, Frei Leopoldo, Etelvina Carneiro, Jaqueline
SBO-09	Córrego Gorduras	Área reduzida, de elevada vulnerabilidade da saúde e com baixa influência de hospitais	São Marcos, Goiânia, Maria Goretti, Dom Silvério, Lajedo
SBO-10	Calha Onça	Ponto na calha do Ribeirão Onça, caracterização do curso d'água	Bairros sem interceptação de esgoto
SBO-11	Entrada ETE Onça	Entrada da ETE	Todos os bairros com coleta e interceptação de esgoto
SBO-12	Saída ETE Onça	Saída da ETE	

SBA = Sub-bacia de esgotamento sanitário do ribeirão Arrudas; SBO = Sub-bacia de esgotamento sanitário do ribeirão do Onça; HC = Hospital das Clínicas; HU = Hospital da Unimed; RN = Hospital Risoleta Neves

*Índice de Vulnerabilidade de Saúde consultado no portal BHmap (PBH, 2018). Tal índice é obtido a partir da ponderação de indicadores socioeconômicos (moradores por domicílio, renda, cor e etnia) e aqueles relacionados a saneamento (acesso a soluções adequadas de abastecimento de água, esgotamento sanitário e destinação final de resíduos).

2.4.3 Escolha dos pontos de amostragem considerando o segundo objetivo

Nesse caso, quando o objetivo principal do plano de monitoramento é fornecer informações que possam subsidiar alertas precoces da presença do vírus, notadamente para eventuais novos surtos da doença, deve-se priorizar a escolha de pontos de amostragem de esgoto que sejam

representativos dos denominados *hot spots*, notadamente aqueles mais frequentados por pessoas em trânsito. Nesse sentido, aeroportos e estações rodoviárias e ferroviárias seriam locais candidatos prioritários, além de pontos de amostragem que possam representar elevados contingentes de população, a exemplo das próprias estações de tratamento de esgoto e grandes estações elevatórias de esgoto. Somam-se ainda aos mencionados *hot spots* as grandes empresas de setores estratégicos, a exemplo da geração de energia e mineração, as quais possuem parques industriais/unidades fabris e centros administrativos que agregam um elevado contingente de funcionários, por vezes correspondendo a populações de pequenas cidades. Nestes casos, o alerta precoce da presença do vírus possibilita, para além da proteção social das comunidades do entorno, a salvaguarda da continuidade de atividades essenciais (p.ex.: geração de energia elétrica).

Cabe mencionar que, no caso de regiões específicas, como as de maior vulnerabilidade, o monitoramento em alguns pontos escolhidos para atender o objetivo 1 poderá fornecer alertas precoces da circulação do vírus, possibilitando a antecipação de ações que visem a proteção da população que vive nessas regiões.

2.4.4 Definição das equipes de campo para coleta das amostras

A disponibilização de equipes de campo para a coleta das amostras talvez seja o aspecto mais limitante para a realização do monitoramento do esgoto no modelo que se propõe para países como o Brasil. O monitoramento tradicional, feito nos países desenvolvidos, usualmente se restringe à coleta de amostras na entrada e na saída das ETEs, atividade esta que já é realizada rotineiramente pela equipe operacional local, sem qualquer necessidade de trabalho ou pessoal extra. Quando se amplia o monitoramento para o sistema de coleta e interceptação, existe a necessidade de se avaliar, criteriosamente, as questões de logística, de disponibilidade de equipes de campo e de acessibilidade aos pontos de amostragem pré-definidos na etapa anterior. A possibilidade de uso de amostradores automáticos é muito vantajosa, pois estes equipamentos reduzem sobremaneira o trabalho e conferem segurança para os operadores, além de propiciarem coleta de amostras em intervalos de tempo pré-determinados e melhor controle sobre a composição das amostras.

Por todos esses aspectos, depreende-se que é essencial que a concessionária local de esgotamento sanitário esteja interessada na realização do estudo e que participe ativamente nas discussões para definição dos pontos de amostragem e disponibilize equipes com pleno domínio de operações de campo (p.ex.: isolamento de faixas de via de tráfego para abertura de poços de visita - PVs, utilização adequada de equipamentos de proteção individual - EPIs, entre outros) para a coleta das amostras.

2.4.5 Locação dos pontos de amostragem em campo

A confirmação da exequibilidade da coleta de amostras nos pontos escolhidos só poderá ser feita após visita e inspeção a cada um dos locais. Alguns aspectos relevantes a serem observados junto aos pontos escolhidos:

- Localização do (s) local (is) de análise das amostras e dos pontos de apoio, que podem servir como locais de armazenamento e preparação dos materiais necessários para as coletas.
- Posicionamento do ponto de amostragem em relação à via pública. Vias com tráfego intenso de veículos devem ser evitadas.

- Profundidade do coletor ou interceptor. Profundidades elevadas (acima de 5 metros) podem dificultar sobremaneira a coleta, notadamente quando esta é feita de forma manual.

2.5 Coleta, preservação e transporte das amostras de esgoto

Uma vez definidos e confirmados os pontos de amostragem, o planejamento das coletas de campo deve considerar os seguintes aspectos principais:

- Tipo e tempo de amostragem: a amostragem composta de 24 horas vem sendo reportada em vários estudos (Medema *et al.*, 2020; Ahmed *et al.*, 2020, Wu *et al.*, 2020) e recomendada em *Webinars* por pesquisadores, mas há que se considerar que períodos de amostragem acima de 6-8 horas têm se mostrado inviáveis na prática, notadamente quando é necessário a coleta de amostras em diversos pontos distribuídos ao longo do sistema de esgotamento sanitário da cidade. Além disso, no contexto brasileiro, operadores enfatizam a importância da vigilância permanente dos equipamentos de amostragem, especialmente amostradores automáticos, durante todo o período de coleta a fim de evitar furtos. Isto dificulta ainda mais a realização de amostragens por períodos acima de 6 horas em diferentes pontos da rede de esgotamento sanitário.

Embora não exista, ainda, consenso sobre o período mínimo recomendado para a composição de amostras tomadas diretamente do sistema de coleta e interceptação, acredita-se que a amostragem no turno da manhã, durante cerca de 4 horas, seja suficiente e apropriada para detectar/representar a carga viral eliminada pelas pessoas infectadas em uma determinada região (sub-bacia de esgotamento sanitário). Nesses casos (fora das ETEs), acredita-se que períodos muito prolongados de amostragem (ao longo de todo o dia) possam, inclusive, ser prejudiciais, pois corre-se o risco que ocorra a diluição excessiva do esgoto em horários de pouca utilização do vaso sanitário, reduzindo a concentração do vírus a níveis que eventualmente prejudiquem/ dificultem a sua detecção. Ou seja, corre-se o risco de se obter um resultado negativo para a ocorrência do vírus em decorrência de concentrações abaixo do limite de detecção do método de análise. Cabe ainda mencionar que, para coletas realizadas em hospitais e indústrias, sendo que nestas a efetiva geração de esgoto pode estar concentrada em momentos de troca de turno ou próximo a intervalos para refeições, recomenda-se que a coleta seja realizada de maneira contínua durante todo o período de amostragem. Dessa forma, eventuais contribuições pontuais de indivíduos portadores do vírus não seriam perdidas entre intervalos amostrais.

- Volume da amostra: muito embora o volume de amostra necessário para a concentração do vírus em laboratório (etapa que antecede a análise RT-PCR) seja muito pequeno (inferior a 500 mL para uma análise com duas repetições), ainda assim é desejável que o volume da amostra composta para cada ponto da rede de monitoramento não seja inferior a 5 litros, a fim de possibilitar melhor representatividade durante o período de amostragem. Tomando-se por base esse volume (5 L) e considerando um período de amostragem de 4 horas, poderia ser coletada 1 alíquota de 250 mL a cada 12 minutos, por exemplo. Nos casos de coletas contínuas, o ideal seria utilização de amostradores automáticos (ver item a seguir), em que diferentes volumes de alíquota podem ser ajustados para serem coletados ininterruptamente, perfazendo o volume total requerido. Numa situação hipotética de monitorar efluentes hospitalares durante 8 horas, a tomada contínua de aproximadamente 10 mL/min seria suficiente para totalizar 5 L.

- Tipo de coleta: a coleta das amostras pode ser feita de forma manual ou com o uso de amostradores automáticos. Como o plano de monitoramento usualmente contempla vários pontos de amostragem e a coleta de amostras ao longo de um determinado período do dia, o emprego de amostradores automáticos agrega uma série de vantagens (p.ex. maior segurança para o operador, maior confiabilidade na composição e preservação das amostras, menor tempo despendido), mas há que se considerar que nem sempre estão disponíveis.

Caso seja feita a opção pela amostragem manual, pode-se avaliar a possibilidade de que uma mesma equipe de operadores se responsabilize pela coleta de amostras de um conjunto de dois ou três pontos, a cada hora, a depender da distância e facilidade de locomoção entre os pontos, conforme exemplificado a seguir. No intervalo de uma hora, cada equipe realizaria as seguintes atividades sequenciais em dois ou três pontos de amostragem: i) abertura do PV; ii) coleta da amostra; iii) transferência de uma alíquota da amostra para frasco acondicionado no gelo; iv) fechamento do PV.

- Preservação da amostra: as amostras devem ser idealmente processadas no menor intervalo de tempo possível após a chegada ao laboratório, por dois aspectos principais: i) para que os resultados de monitoramento possam ser efetivamente utilizados como ferramenta de vigilância epidemiológica, acompanhando tendências / alterações de ocorrência do novo coronavírus ao longo da curva epidêmica ou como indicativo de alerta precoce do início da circulação do vírus; e ii) para assegurar a qualidade analítica dos resultados, sem a necessidade de congelamento a baixas temperaturas.

Em campo, durante todo o intervalo de coleta das amostras, deve-se assegurar que o conjunto das alíquotas coletadas permaneça sob temperatura igual ou inferior a 4 °C. Este procedimento é facilitado quando do uso de amostradores automáticos dotados de isolamento térmico (ver Figura 3), em que a inserção de placas de gelo artificial pode ser utilizada para a manutenção do volume coletado sob baixas temperaturas. As amostras devem ser idealmente acondicionadas em frascos de polipropileno novos ou esterilizados em autoclave.

Em relação aos critérios de temperatura e tempo a serem observados para a preservação de amostras após a chegada no laboratório, estes serão abordados na Nota Técnica: Métodos para concentração e quantificação do novo coronavírus em amostras de esgoto por análises moleculares.

No âmbito do projeto piloto já mencionado, os seguintes procedimentos principais têm sido utilizados:

- Isolamento da área ao redor do tampão de acesso ao poço de visita, usando cones ou cavaletes sinalizadores.
- Instalação de amostradores automáticos (Figura 2), equipados com bateria, frasco coletor e placas de gelo artificial reutilizável, para manter a amostra a 4 °C.
- Coleta de amostras semicompostas representativas do período da manhã, usualmente entre 8:30 e 12:30 horas. O frasco coletor (volume 10 litros) é mantido envolto pelas placas de gelo durante todo o período de amostragem. O amostrador é programado para coletar uma alíquota de cerca de 400 mL a cada 10 minutos, totalizando aproximadamente 10 litros ao término de um período de 4 horas de amostragem.
- Ao término da amostragem, o volume acondicionado no frasco coletor é homogeneizado e transferido para outros dois frascos, cada um com o volume de 1 litro. Um destes frascos é levado ao laboratório de análises microbiológicas do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), para os procedimentos associados à detecção e quantificação do novo coronavírus (item 2.6). O outro frasco é transportado para o laboratório central de análises físico-químicas em esgoto da Copasa, localizado nas dependências da ETE Arrudas, com o objetivo de serem realizadas análises complementares dos seguintes parâmetros: demanda química de oxigênio (DQO), sólidos suspensos totais (SST), surfactantes e coliformes termotolerantes (ou *E. coli*). Ambos os frascos são acondicionados no gelo durante o transporte.

Essas análises complementares, especificamente em relação aos parâmetros DQO, SST e coliformes termotolerantes (ou *E. coli*), objetivam auxiliar na interpretação dos resultados provenientes do laboratório de análises microbiológicas, principalmente para elucidar se eventuais concentrações mais elevadas ou mais baixas do novo coronavírus devem-se ao número de portadores ou às características de diluição do esgoto (em diferentes sub-bacias de esgotamento sanitário, com diferentes consumos *per capita* de água e contribuições de infiltração e parasitárias de água de chuva).

Logo, é possível ter mais clareza se os resultados de concentração do vírus no esgoto são efetivamente decorrentes da carga viral da população contribuinte ou se há interferência associada à diluição do esgoto daquela região (sub-bacia de esgotamento sanitário) em específico. Adicionalmente, para uma mesma distribuição espacial de pessoas infectadas com o vírus (em diferentes regiões), espera-se que esgotos mais concentrados (em termos de DQO, SST e coliformes) possivelmente também apresentarão concentrações mais elevadas do vírus. E o contrário também é verdadeiro.

Adicionalmente, a análise da concentração de surfactantes (LAS) no esgoto é realizada. Isso porque o novo coronavírus tem sido detectado em países onde, sabidamente, a concentração de surfactantes (LAS) no esgoto é menor do que as encontradas no Brasil. Todavia, ainda há dúvida se as concentrações mais elevadas de surfactantes possam ser um fator determinante das concentrações ou limites de detecção virais no esgoto.

- As coletas das amostras de esgoto bruto (afluente) e tratado (efluente final) nas ETEs Arrudas e Onça seguem o procedimento normal já adotado nessas duas ETEs, todavia a composição das amostras é feita em 24 horas.

Na Figura 3 é ilustrada a etapa de coleta de amostras em um dos poços de visita do sistema de esgotamento sanitário de Belo Horizonte.



2.6 Recebimento e processamento das amostras no laboratório

Uma vez entregues no laboratório, as amostras podem ser processadas em sequência, no mesmo dia, ou preservadas em geladeira, a 4 °C, para processamento em no máximo 7 dias (Wu *et al.*, 2020). Os procedimentos de análise podem diferir de um laboratório para outro mas, de forma geral, consistem de 4 etapas principais: (i) concentração do vírus; (ii) extração do RNA viral; (iii) detecção e quantificação do vírus através de reação única de transcrição reversa e PCR em tempo real (One Step Real Time RT-PCR); e (iv) análise e interpretação dos resultados.

Os procedimentos de análise serão apresentados de forma detalhada (e ilustrada) na Nota Técnica: Métodos para concentração e quantificação do novo coronavírus em amostras de esgoto por análises moleculares.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Encontram-se sintetizadas no presente Protocolo as principais diretrizes de interesse para a elaboração de planos de monitoramento do esgoto para a detecção do novo coronavírus, de forma regionalizada, com foco na realidade de países em desenvolvimento. O efetivo sucesso do plano de monitoramento depende sobremaneira do estabelecimento de canais claros de interlocução entre os atores envolvidos, sendo essencial que a concessionária local de esgotamento sanitário esteja interessada na realização do estudo e que participe ativamente nas discussões para definição dos pontos de amostragem e metodologia de coleta, e disponibilize equipes com pleno domínio de operações de campo. Ademais, é importante o envolvimento de equipe da área de saúde, tanto para

auxiliar na escolha dos hospitais de referência para a Covid-19 a serem incluídos no Plano de Monitoramento, como também para a disponibilização de dados do Sistema Único de Saúde (SUS) para o cruzamento com os resultados de monitoramento do esgoto.

4 AGRADECIMENTOS

Para a consecução de todas as etapas descritas neste protocolo, importantes contribuições foram dadas por diversos profissionais das empresas Copasa, Fibrasa, WB Suporte Técnico, além da Coordenadoria de Inovação e Transferência Tecnológica (CTIT) da UFMG.

5 REFERÊNCIAS

Ahmed W., N. Angel, J. Edson, 2020. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID19 in the community, Science of the Tot. Environ. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>.

Wu, F., Xiao, A., Zhang, J., Gu, X., Lee, W., Kauffman, K., Hanage, W., Matus, M., Ghaeli, N., Endo, N., Duvallet, C., Moniz, K., Erickson, T., Chai, P., Thompson, J., Alm, E., 2020a. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.04.05.20051540>.

Wurtzer *et al*, 2020a. Time course quantitative detection of SARSCoV2 in Parisian wastewaters correlates with COVID-19 confirmed cases. <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>doi: medRxiv preprint.

Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., 2020. Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage. medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.03.29.20045880>.

Nemudryi, A., Nemudraia, A., Surya K., Wiegand T., Buyukyoruk M., Wilkinson, R., Wiedenhelft, B. 2020. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. <https://doi.org/10.1101/2020.04.15.20066746>.

PBH, 2018. Prefeitura de Belo Horizonte. Portal BHmap: Índice de Vulnerabilidade de Saúde. <http://bhmap.pbh.gov.br/v2/mapa/idebhgeo>. Acesso em: 14 de maio de 2020.

Tsutiya, M. T., Alem Sobrinho, P. 1999. Coleta e transporte de esgoto sanitário. São Paulo: EPUSP/PHD.

