

El sistema VIGÍA: control de pandemias a través del análisis del agua residual

The VIGÍA System: Pandemic Control Through Wastewater Analysis

Antonio Lastra de la Rubia^{1*}, Jaime Botello Herranz², Alejandro Pinilla Riveiro³, Juan Sánchez García⁴, Pascual Fernández Martínez⁵

Resumen

Este estudio analiza la presencia y dinámica del ARN del SARS-CoV-2 en el sistema de saneamiento de aguas residuales de la Comunidad de Madrid, iniciado a principios de 2020. Los resultados estadísticos se presentan diariamente a través de una plataforma que sirve como herramienta para la detección temprana del ARN del SARS-CoV-2 y su propagación, mediante técnicas de epidemiología basada en aguas residuales (WBE, por sus siglas en inglés). El proyecto recibe el nombre de “SISTEMA VIGÍA”.

La primera aproximación fue la realización de una prueba piloto para establecer los criterios de selección de los puntos de muestreo. Posteriormente, la red para toda la Comunidad de Madrid se conformó con 289 puntos de muestreo, que recogen los vertidos de casi siete millones de habitantes.

En este documento se resume la metodología referente a los análisis de laboratorio y estadísticos, así como la interpretación de resultados. Cada punto de muestreo representa a una cuenca de la red de alcantarillado, donde algunos de ellos se encuentran en una distribución en cascada. Las muestras se analizan para determinar la concentración de ARN del SARS-CoV-2 (gc/l, copias del genoma por litro), y se analizan diferentes parámetros fisicoquímicos para validar o descartar muestras alteradas. Se establecen comparaciones de los resultados de las muestras recogidas en campo, con los indicadores de salud disponibles como son las tasas de incidencia y los datos de hospitalización, observando correlación entre estas variables. Esta información se comparte diariamente con las autoridades sanitarias para el asesoramiento y la toma de decisiones.

Palabras clave: SARS-CoV-2; Epidemiología basada en las aguas residuales (WBE); salud pública; VIGÍA, aguas residuales.

Abstract

This study analyses the presence and dynamics of SARS-CoV-2 RNA in the wastewater sanitation system of the Community of Madrid, initiated in early 2020. The statistical results are presented daily through a platform that serves as a tool for the early detection of SARS-CoV-2 RNA and its spread, using to this effect wastewater-based epidemiology (WBE) techniques. The project is named “Vigia System”.

The first step was to conduct a pilot test to establish the criteria for the selection of sampling points. Then, a network for the entire Community of Madrid was built with 289 sampling points, collecting the discharges of almost seven million inhabitants.

Thus, this paper summarises the methodology followed regarding the laboratory and the statistical analyses, as well as the interpretation of the results. Each sampling point represents a catchment of the sewerage network, where some of them are in a cascading distribution. Samples are analysed for SARS-CoV-2 RNA concentration (gc/l, genome copies per litre), and different physicochemical parameters are analysed to validate or discard altered samples.

Finally, comparisons are made between the results of samples collected in the field by using available health indicators such as incidence rates and hospitalisation data, and observing correlations between these variables. This information is shared daily with health authorities for advice and decision making.

Keywords: COVID-19, Wastewater-Based Epidemiology (WBE), public health, VIGÍA, wastewater.

1. INTRODUCCIÓN

A principios de 2020, a consecuencia de la evolución de la pandemia COVID-19, se llevaron a cabo diferentes estudios en los cuales se validaron procesos de monitorización y detección de trazas del SARS-CoV-2 en las aguas residuales en múltiples países. Canal de Isabel II, como empresa responsable de la gestión de la infraestructura hídrica en la Comunidad de Madrid, ideó desde la Subdirección de I+D+i un sistema para la monitorización de la propagación del SARS-CoV-2 en las aguas residuales que sirviera como herramienta en la toma de decisiones para las autoridades sanitarias de la Comunidad de Madrid.

Se realizaron estudios previos que informaron de la detección de ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales

* Autor de contacto: alastra@canal.madrid

¹ Doctor ingeniero de caminos, canales y puertos. Subdirección de I+D+i, Canal de Isabel II. C/ Santa Engracia 125, Madrid.

² Ingeniero de caminos, canales y puertos. Subdirección de I+D+i, Canal de Isabel II. C/ Santa Engracia 125, Madrid.

³ Ingeniero industrial. Subdirección de I+D+i, Canal de Isabel II. C/ Santa Engracia 125, Madrid.

⁴ Ingeniero de caminos, canales y puertos. Dirección de Innovación e Ingeniería. C/ Santa Engracia, 125, Madrid.

⁵ Doctor en Ciencias Económicas y Empresariales. Consejero delegado. Canal de Isabel II. C/ Santa Engracia, 125, Madrid.

en diferentes países como son los Países Bajos (Medema *et al.*, 2020), EEUU (Sherchan *et al.*, 1406), Australia (Ahmed *et al.*, 2020a) e Italia (La Rosa *et al.*, 2020). Uno de los primeros estudios basados en la vigilancia de COVID-19 en aguas residuales se realizó en Australia, donde se enumeraron las copias de ARN viral utilizando la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa con transcriptasa inversa (RT-qPCR), lo que dio como resultado dos detecciones positivas dentro de un periodo de seis días desde la misma estación depuradora de aguas residuales (EDAR), (Ahmed *et al.*, 2020a). En los Países Bajos se analizaron muestras de aguas residuales en seis ciudades y el aeropuerto mediante ensayos de RT-qPCR, tres de los cuales se enfocaron en el gen de la nucleocápside (N1-N3) y uno el gen de la envoltura (E), a principios de marzo, se detectaron uno o más fragmentos de genes en las aguas residuales de tres sitios (Medema *et al.*, 2020). En Italia, se probaron doce muestras de aguas residuales en afluentes, recolectadas entre febrero y abril de 2020 de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales en Milán y Roma, de las cuales seis de las doce muestras fueron positivas. Uno de los resultados positivos se obtuvo en una muestra de aguas residuales de Milán recogida unos días después del primer caso italiano notificado de SARS-CoV-2 autóctono (La Rosa *et al.*, 2020).

2. OBJETIVOS PERSEGUIDOS

En este estudio, el objetivo fue analizar la presencia y evolución del material genético del SARS-CoV-2 en el sistema de saneamiento de aguas residuales de la Comunidad de Madrid basado en el método RT-qPCR como una herramienta potencial para la detección de alerta temprana de la propagación del SARS-CoV-2 en la población. Dicho trabajo se inició a finales del mes de marzo del 2020, cuando las cifras epidemiológicas en España de casos confirmados de personas contagiadas de COVID-19 y decesos diarios rondaban los 10.000 y 850 respectivamente (Worldometer.info, 2020), coincidiendo con la cresta de la primera ola de la pandemia que afectó a España y en particular a la Comunidad de Madrid. El proyecto partió con el reto de monitorizar las aguas residuales de prácticamente toda la región de Madrid, lo cual supuso la definición de cada una de las cuencas de alcantarillado de la Comunidad de Madrid y se tuvo que realizar una selección exhaustiva de puntos de muestreo de la red de saneamiento que recogerían datos relevantes para la investigación, con el fin de representar la carga viral por habitante.

Para la definición de dichas cuencas de alcantarillado se tuvieron en cuenta varias variables como la distancia al centro de la ciudad o el número de habitantes. Cada punto de muestreo recolecta las aguas residuales de las diferentes cuencas de alcantarillado definidas, esto significa que semanalmente se monitorean más de seis millones y medio de habitantes. Además, teniendo en cuenta que la red de alcantarillado tiene una configuración de red arbórea, algunos de esos puntos de muestreo recogen las aguas residuales de otros puntos aguas arriba en el sistema de alcantarillado, a lo que se denomina distribución en cascada. En la actualidad, este estudio se lleva a cabo en toda la Comunidad de Madrid mediante 289 puntos de muestreo estratégicamente ubicados en colectores a lo largo de la red de alcantarillado y en estaciones depuradoras de agua residual.

La investigación anterior se basa en la recogida de muestras individuales con periodicidad semanal de los 289 puntos de muestreo definidos en el sistema y, posteriormente, se realiza el análisis de laboratorio de dichas muestras, un proceso de cribado y validación de datos y un análisis estadístico de los resultados obtenidos, para finalmente visualizarlo en una plataforma de interpretación de resultados. Los resultados son representados como datos de visualización gráfica (Canal de Isabel II, 2020) por esta poderosa herramienta, que actúa como un sistema de detección de alerta temprana del SARS-CoV-2. Esos resultados ya han sido útiles para anticipar la segunda, tercera, cuarta y quinta oleadas que se han producido de la pandemia en la Comunidad de Madrid, mostrando similitudes en cuanto a tendencias se refiere entre las concentraciones de material genético de SARS-CoV-2 en las aguas residuales y los datos de hospitalización comunicados por la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid (<https://www.comunidad.madrid/covid-19>).

Este estudio, desarrollado por Canal de Isabel II en las aguas residuales, detecta la propagación de SARS-CoV-2 a través de un enfoque epidemiológico. Estos datos se comparten diariamente con la Consejería de Sanidad de la región de Madrid con fines de consulta y toma de decisiones.

3. METODOLOGÍA UTILIZADA

Este estudio se ha realizado sobre toda la red de saneamiento de la Comunidad de Madrid, la cual se encuentra principalmente combinada y da servicio a 179 municipios. La red cuenta con más de 15.000 km de colectores y emisarios y 157 estaciones depuradoras de aguas residuales, todas ellas responsables del tratamiento de las aguas residuales de más de seis millones y medio de habitantes (Lasra *et al.*, 2019).

En la actualidad, este estudio se realiza en toda la Comunidad de Madrid mediante 289 puntos de muestreo ubicados estratégicamente a lo largo de la red de alcantarillado y las estaciones depuradoras de aguas residuales, y se caracterizan semanalmente en términos de concentración de ARN SARS-CoV-2. En estudios previos se apunta a que una estrategia de muestreo semanal ofrece una cuantificación adecuada (La Rosa *et al.*, 2020), y esto es especialmente relevante en sistemas con gran número de puntos y amplia extensión geográfica, en los que hay que alcanzar un compromiso entre representatividad y capacidad de realizar análisis.

Para ello se ha dispuesto un complejo sistema logístico de entre cuatro y seis rutas diarias de recogida de muestras puntuales de 500 ml, las cuales se planifican diariamente desde aguas arriba hasta aguas abajo. Además, las muestras se toman a una hora fija en cada punto buscando obtener una “foto” comparable entre tomas sucesivas, evitando así las variaciones que experimenta el flujo a lo largo del día y que son consecuencia directa de los hábitos de la población (Peccia *et al.*, 2020; The Water Research Foundation, 2020). Cada muestra debe mantenerse refrigerada en el entorno de los 4 °C y enviarse al laboratorio tan pronto como finalice el proceso de recolección, ya que la temperatura juega un papel importante en términos de degradación viral a lo largo del tiempo (Gundy *et al.*, 2009).

Los vertidos industriales y los eventos de lluvia podrían afectar potencialmente la detección de presencia de ARN del virus en la red de alcantarillado, por lo que se analizan parámetros fisicoquímicos adicionales (Ahmed *et al.*, 2020b) para evaluar concentraciones inusuales en las aguas residuales. En tales casos, se requiere un nuevo muestreo.

3.1. Definición de cuenca de alcantarillado

A principios del segundo trimestre de 2020 se llevó a cabo una prueba piloto en un municipio de la Comunidad de Madrid de más de 100.000 habitantes, basada en RT-qPCR y con ello tratar de obtener unos criterios de definición de las cuencas de alcantarillado y así poder extenderlo a toda la región de Madrid. Se seleccionaron 10 pozos de la red de alcantarillado para evaluar la ubicación de cada punto de muestreo en términos de distancia de los centros de población y tiempos de retención hidráulica. Esta elección de puntos se hizo para que los puntos ubicados aguas abajo incluyan las cargas de ARN del virus de aguas arriba y así poder estudiar la agregación del flujo y la degradación del material genético del SARS-CoV-2 con el tiempo y la dilución.

Los resultados permitieron a los investigadores establecer criterios de definición de cuencas para poder escalar el sistema de seguimiento a toda la red de saneamiento de Madrid. Para lograr la representatividad adecuada del SARS-CoV-2 y, cuando sea posible, se deben aplicar los

siguientes criterios de selección de los puntos de muestreo: una cuenca de alcantarillado de un máximo de 25.000 habitantes equivalentes, una distancia de no más de 3,5 km del centro de la población y no más de 2,5 km de distancia desde la última acometida de descarga de saneamiento (figura 1).

Teniendo en cuenta las particularidades de la Comunidad de Madrid (alta densidad de población en el centro de la región y muchas áreas dispersas con baja densidad de población a su alrededor), y para poder cumplir con los criterios establecidos, se han utilizado un total de 289 puntos de muestreo para recoger los datos de toda la población de la Comunidad de Madrid (figura 2). De estos 289 puntos de muestreo, se han seleccionado 116 en estaciones depuradoras de agua residual cuando ha sido posible, para facilitar la recogida de muestras y el resto en pozos de la red de alcantarillado.

El proyecto depende significativamente de la cadena logística para la recolección y el transporte de las muestras, por lo que se considera prioritario la labor de muestreo sobre el terreno. El funcionamiento de este sistema logístico es fluido y no implica que los técnicos de recogida de muestras entren en contacto directo con las aguas residuales sin tratar. Para cumplir con este requisito y estar del lado de la seguridad y salud de las personas que recogen las muestras se han reubicado más del 60 % de los pozos de acceso a la red de alcantarillado para garantizar la seguridad.

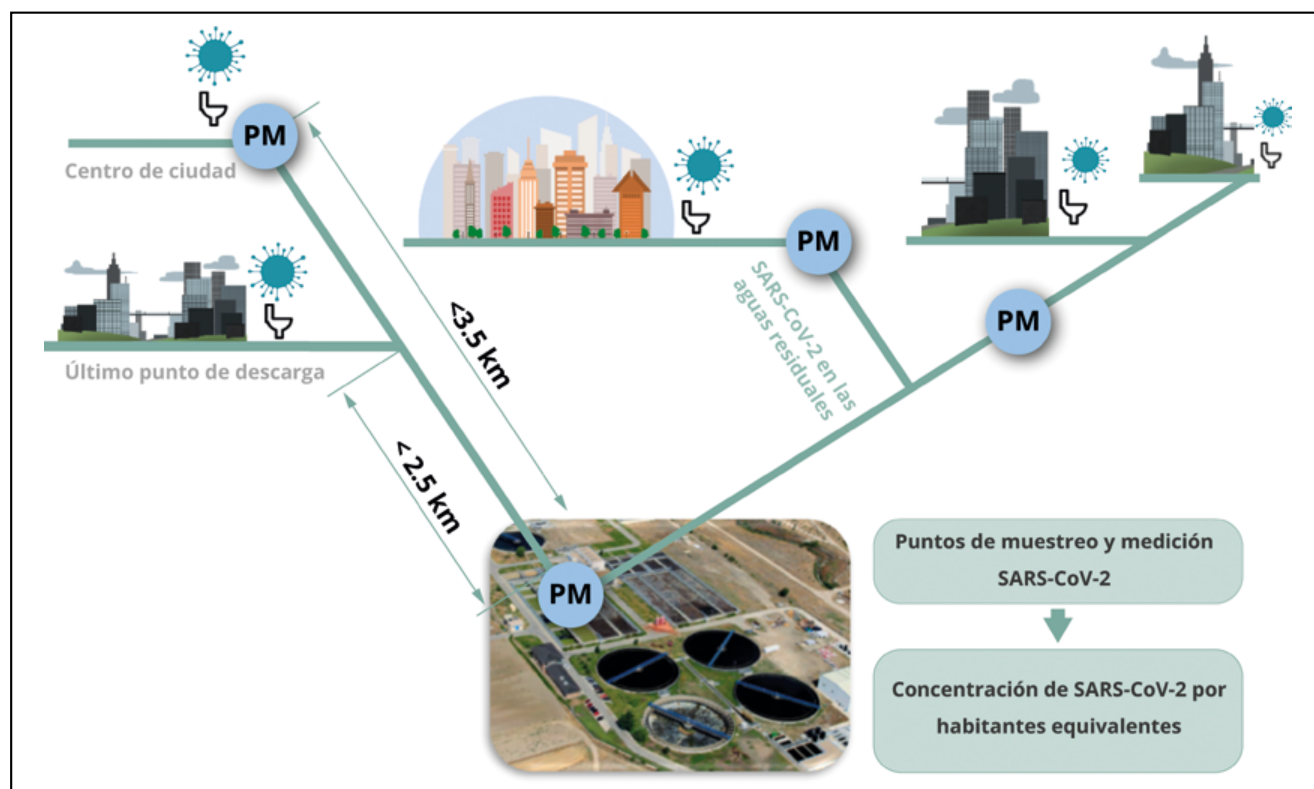


Figura 1. Criterios de definición de cuencas de alcantarillado y selección de puntos de muestreo.

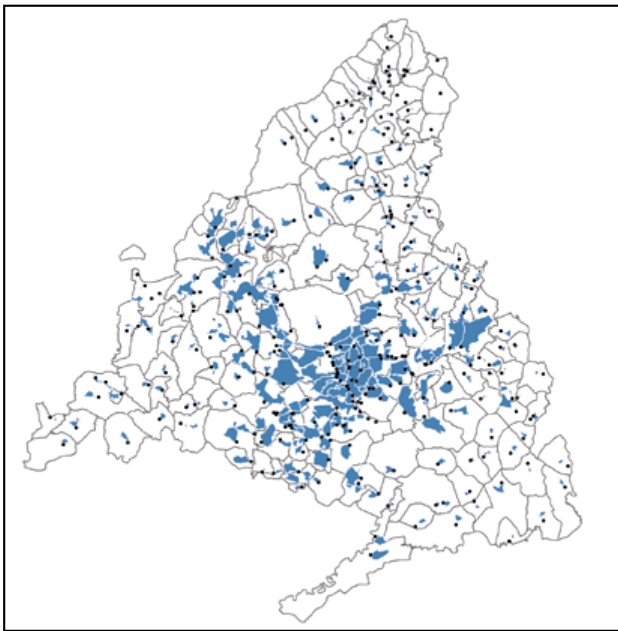


Figura 2. Mapa de cuencas (en azul) y puntos de muestreo del sistema Vigía.

3.2. Análisis de los resultados

El proceso de análisis de los resultados obtenidos en laboratorio tiene una alta complejidad debido a la sensibilidad y variabilidad de la señal de ARN del SARS-CoV-2 en la red de saneamiento, es por ello por lo que se lleva a cabo un cribado, normalización y validación de los resultados obtenidos previamente en el laboratorio. Las muestras no se analizan únicamente para detectar la presencia del SARS-CoV-2, además se analizan parámetros fisicoquímicos como la temperatura, DQO, niveles de cloruro y conductividad eléctrica para verificar la composición de las aguas residuales y detectar el efecto de la escorrentía en días de lluvia o los vertidos industriales que se pueden producir a la red de alcantarillado.

Canal de Isabel II analiza las muestras en tres laboratorios de los cuales uno de ellos es propio de Canal, de esta manera se establecen procedimientos de control de calidad internos para el análisis de los resultados obtenidos y así poder disponer de un sistema de control en caso de que se produzca una incidencia en alguno de los laboratorios que conlleve la alteración de los resultados. Además, se sigue el criterio de que aquellas muestras tomadas del mismo punto de muestreo deben ser analizadas en el mismo laboratorio.

Los resultados están disponibles como máximo en los dos días posteriores a la recogida de muestras. Una vez recibidos, se homogeneizan los datos debido a que cada laboratorio cuantifica el ARN del SARS-CoV-2 con protocolos distintos y se analizan al menos 5 puntos de muestreo, correspondientes a cuencas de alcantarillado importantes por triplicado (en los 3 laboratorios), como control de calidad interno para el proceso de homogeneización de resultados.

En cuanto a los criterios de cribado y validación de resultados, cabe mencionar el cambio porcentual de la concentración de SARS-CoV-2 para detectar tendencias extremas y los resultados de los parámetros fisicoquímicos, que se comparan con la serie histórica registrada en cada punto de muestreo de forma independiente, y que deben estar dentro de los límites de cuantificación esperados en las aguas residuales urbanas.

Es importante tener en cuenta que se trabaja con una variedad importante en cuanto a las características de las cuencas, tanto por su tamaño como por sus usos. Este es el motivo por el que los parámetros se controlan individualmente. Por ejemplo, se observan claras diferencias entre cuencas urbanas (DQO $\approx$ 800 mg/L), rurales (DQO $\approx$ 300 mg/L) y cuencas con una actividad industrial significativa (DQO superiores a 1.000 mg/L en promedio y mayor variabilidad).

Cuando un nuevo parámetro tiene un valor extremo (Ahmed *et al.*, 2020a; Hart y Halden, 2020), se solicita una muestra nueva en ese punto para la validación del resultado, que se recoge en los siguientes 2 o 3 días hábiles (Candel *et al.*, 2021). En definitiva, este contranálisis podría validar o descartar la primera muestra. Durante este periodo sin datos reales, la concentración de material genético del SARS-CoV-2 se extrapola provisionalmente (Kumar *et al.*, 2020) utilizando resultados anteriores para dar una visión global de toda la región de Madrid y en los puntos de muestreo que no se dispone de datos se completan utilizando la media móvil de los dos últimos valores.

El sistema Vigía dispone de diferentes gráficos de representación de los resultados, para mostrar la presencia semanal del SARS-CoV-2 en las aguas residuales de toda la Comunidad de Madrid, todos los puntos de muestreo se agregan en una curva, evaluada de acuerdo con el análisis estadístico previamente explicado. Los resultados se normalizan por 100.000 habitantes para estar alineados con los indicadores de salud y las estadísticas locales. Además, se ha desarrollado una agregación de los resultados a nivel municipal, a disposición pública en <https://www.canaldeisabelsegunda.es/mapa-vigia>.

4. RESULTADOS OBTENIDOS E INTERPRETACIÓN

Desde julio de 2020, Canal de Isabel II ha estado analizando las aguas residuales para evaluar la presencia de ARN del SARS-CoV-2 de forma regular. Los resultados muestran una fuerte correlación entre la presencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales y diferentes indicadores epidemiológicos. En esta sección se realiza un análisis comparativo con los indicadores de hospitalización y los casos notificados.

4.1. Procesamiento de datos diarios

El sistema de alcantarillado de Madrid es principalmente combinado, lo que significa que, junto con los vertidos domésticos, el alcantarillado recoge escorrentía y vertidos industriales. Todavía no está claro cómo los fragmentos detectables del virus SARS-CoV-2 de personas infectadas interactúan con los efluentes anteriores. Sin embargo, para anticipar una dilución inusual que podría afectar potencialmente la detectabilidad del virus, también se monitorean los parámetros fisicoquímicos para detectar valores atípicos. Según los datos disponibles la DQO parece ser el parámetro más relevante para detectar una composición de la dilución inusual en las aguas residuales, dado que es más sensible a ambos escenarios (altas diluciones por episodios de lluvia y mayor presencia de contaminantes de lo habitual por vertidos industriales). Además, los niveles de cloruro y la conductividad eléctrica también se controlan como criterios adicionales para detectar una composición inusual, aunque son más estables (figuras 3 y 4).

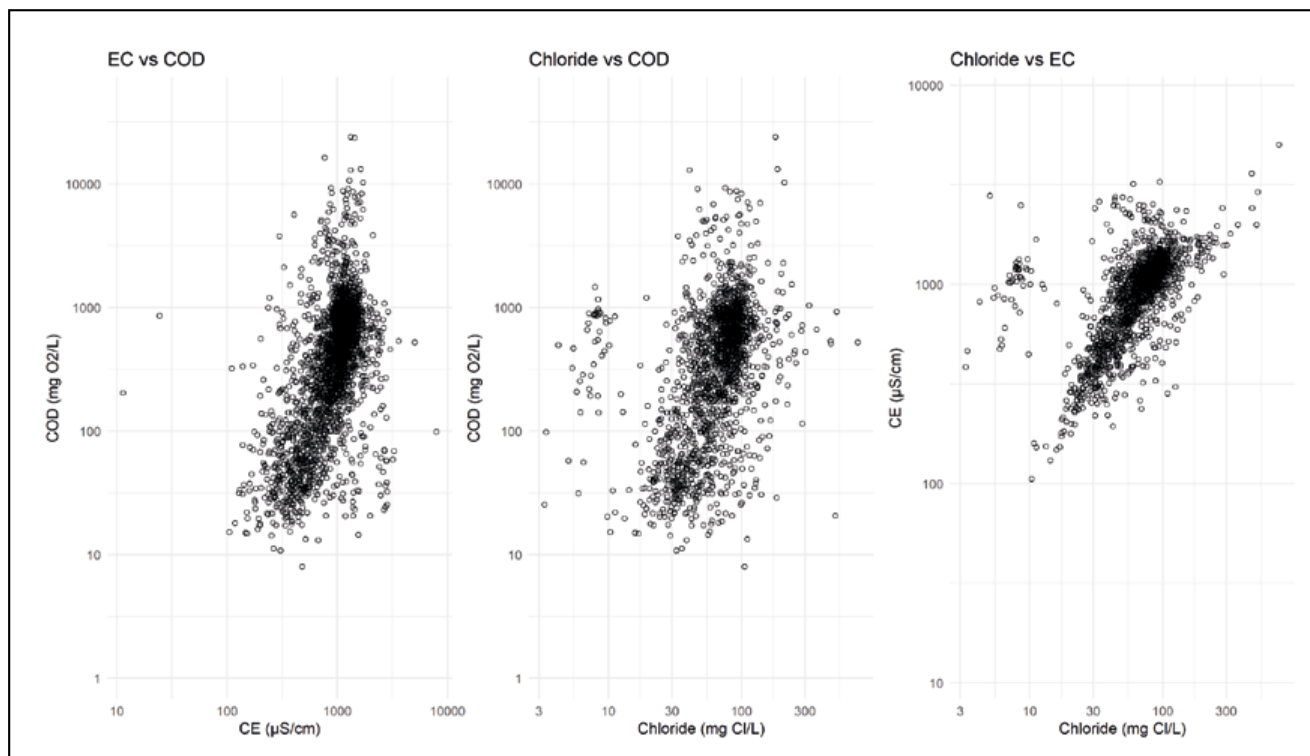


Figura 3. Análisis de dispersión de los parámetros fisicoquímicos: conductividad eléctrica (EC, por sus siglas en inglés), DQO (COD) y cloruros (Chloride).

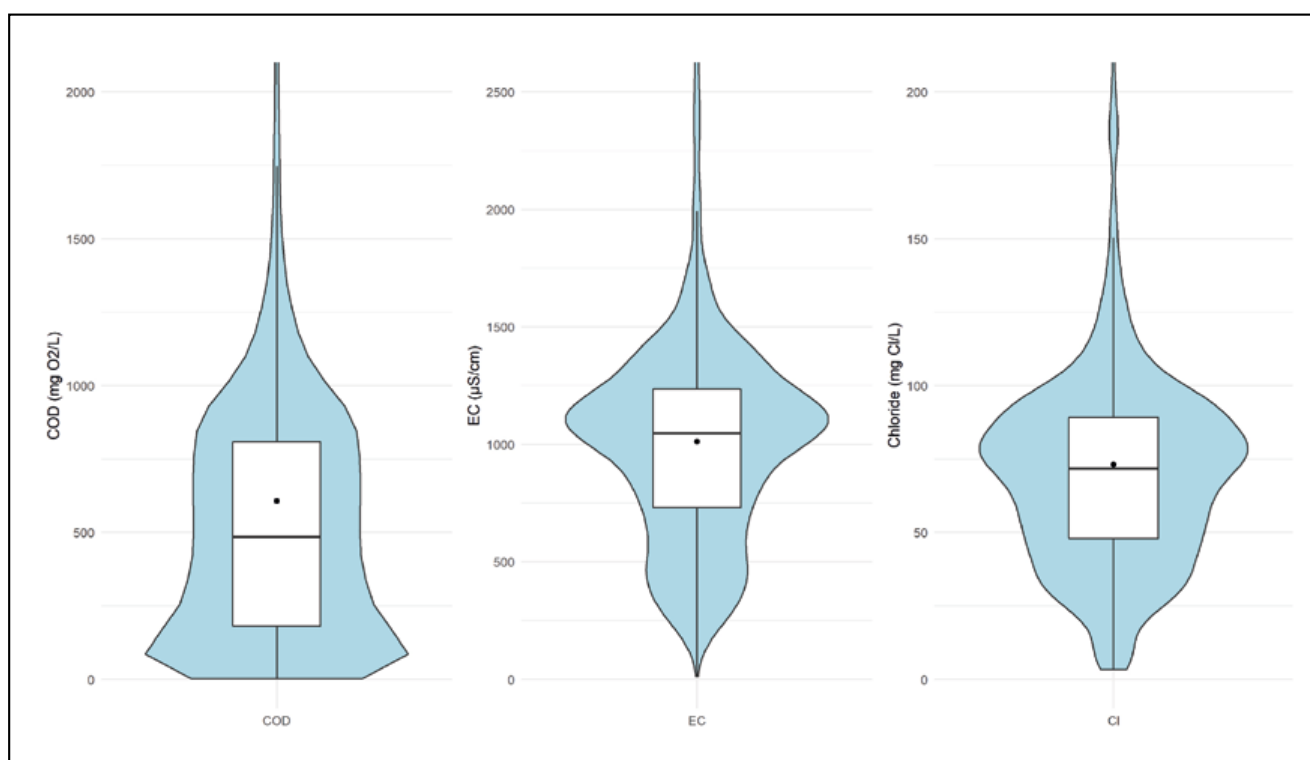


Figura 4. Distribuciones observadas de los parámetros fisicoquímicos: conductividad eléctrica (EC, por sus siglas en inglés), DQO (COD) y cloruros (Chloride).

Las muestras con valores fuera de rango se vuelven a muestrear para verificar o descartar los resultados de la PCR en un plazo de 2 a 3 días. En la figura 5 se puede ver un ejemplo de muestras descartadas, con valores altos y bajos de DQO asociados con valores atípicos de gc/L de SARS-CoV-2.

Este procedimiento para la validación de los resultados corresponde a una parte del procedimiento completo (figura 6). La repetición de muestras no ha dado lugar a un

aumento significativo del trabajo de campo. Los eventos de lluvia han sido la principal causa de dispersión, como se muestra en la figura 7, donde las muestras mensuales descartadas no representaron más del 10 % entre septiembre y noviembre y menos del 5 % entre agosto de 2020 y marzo de 2021.

Las muestras muy diluidas a menudo se relacionan con concentraciones poco consistentes de presencia de

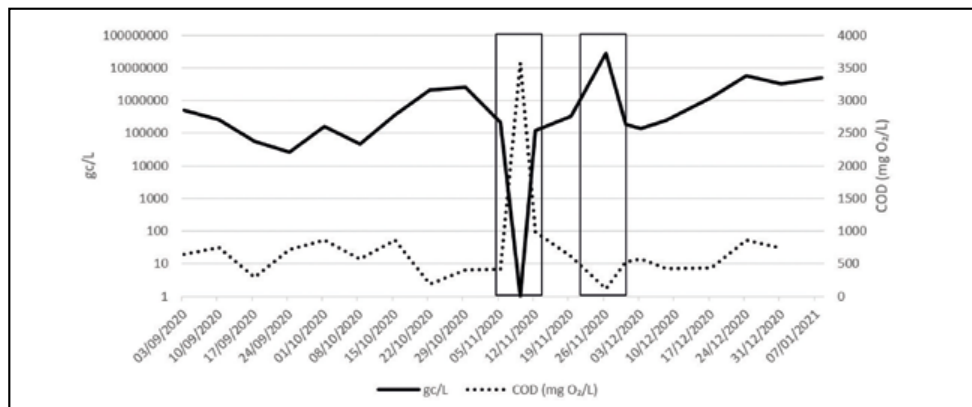


Figura 5. Detección de valores atípicos en DQO.

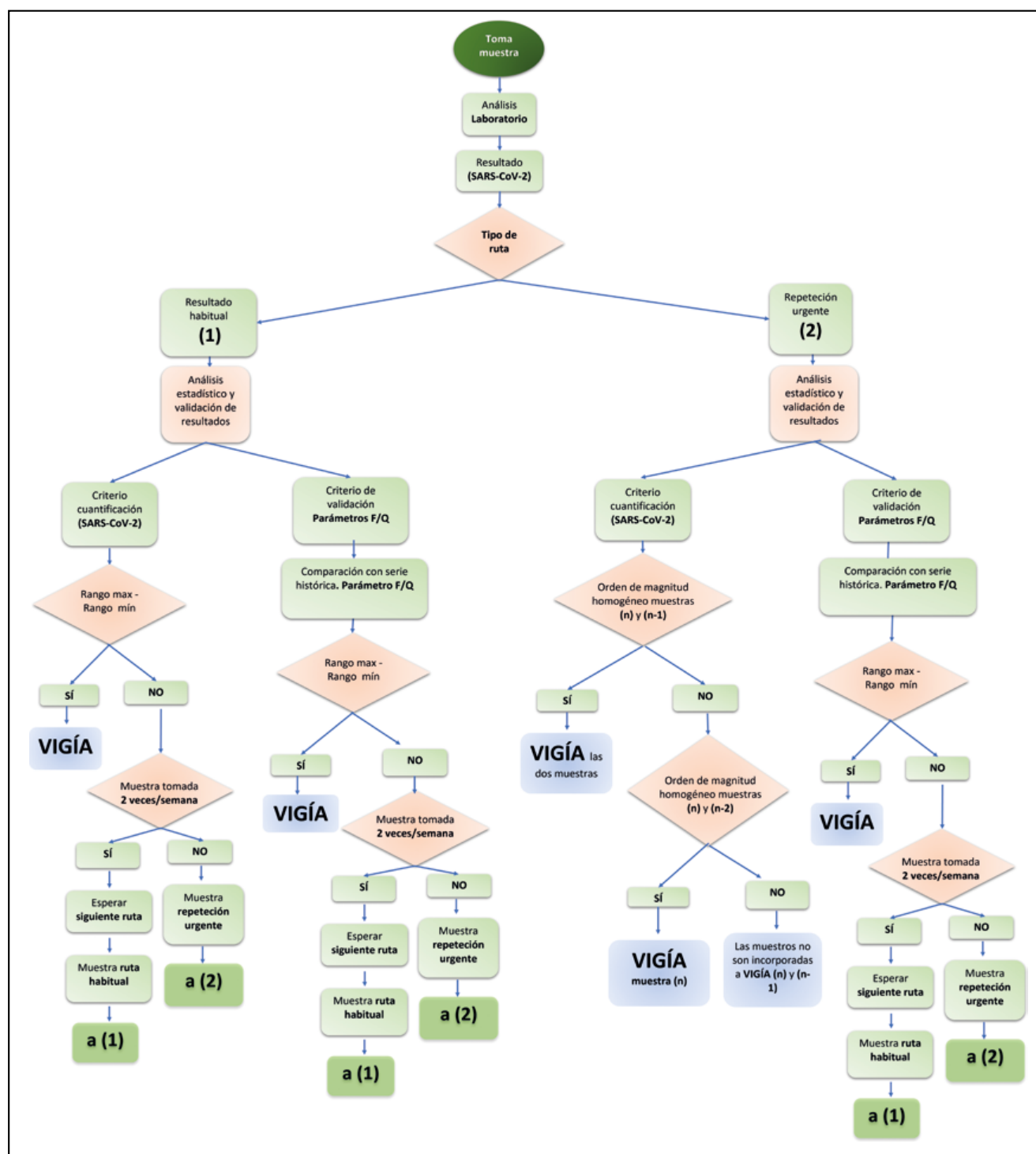


Figura 6. Proceso completo de validación de resultados.

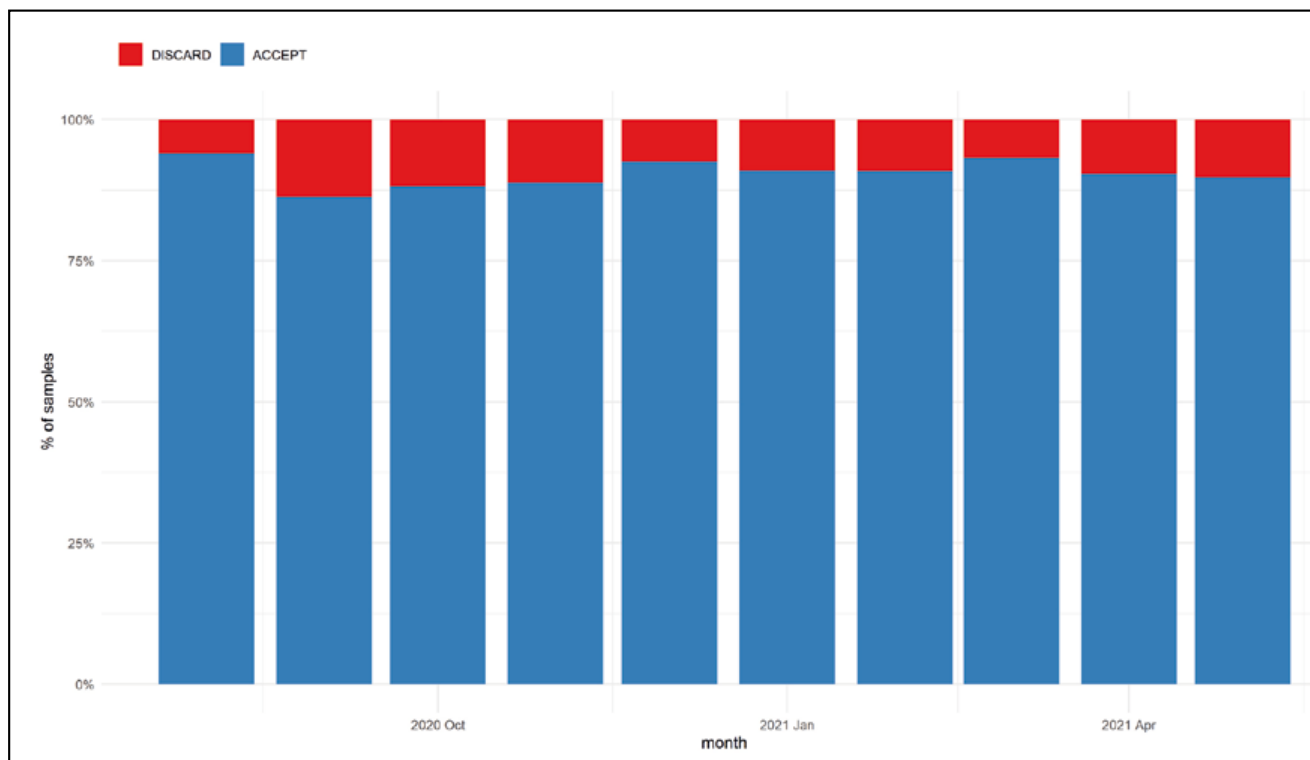


Figura 7. Porcentaje de muestras descartadas y aceptadas mensualmente.

ARN del SARS-CoV-2 en los colectores; sin embargo, esto no significa que las concentraciones sean necesariamente bajas. De hecho, algunos resultados mostraron altas concentraciones de SARS-CoV-2 junto con bajas DQO en muestras tomadas en días con eventos de lluvia, esto podría deberse a fenómenos de primer lavado o re-suspensión en la red de alcantarillado. Los valores representativos de DQO son significativos siempre que se comparen con el mismo punto de muestreo, teniendo cada pozo una representatividad diferente debido a que la Comunidad de Madrid tiene sistemas de saneamiento muy diferentes desde el punto de vista de la dilución de las aguas residuales.

Buscando representar la variabilidad observada en los resultados, junto con los dos criterios principales de descarte de resultados (variación relativa respecto a la muestra anterior y valor de DQO), se muestra en la figura 8, para toda la serie histórica disponible, la variación porcentual logarítmica en dos muestras sucesivas de un mismo punto, según la ecuación 1, frente al valor normalizado de DQO (cada punto de muestreo normalizado respecto a su serie histórica propia), según la ecuación 2:

$$\text{Log_porcentaje_cambio_ARN}_i = \log\left(\frac{\text{ARNconcentración}_i}{\text{ARNconcentración}_{i-1}}\right) \quad [1]$$

$$\text{DQO } z \text{ score}_i = \frac{\text{DQO}_i - \text{media}(\text{DQO})}{\text{desvest}(\text{DQO})} \quad [2]$$

Como se puede observar, las muestras descartadas se concentran principalmente donde se han experimentado importantes variaciones en la señal de SARS-CoV-2. Además, también destacan muestras con valores extremos de DQO, aunque no hayan supuesto en algunos casos una modificación de la señal muy importante, ubicadas en los extremos del eje horizontal, especialmente los valores bajos asociados a precipitaciones.

Dado que los criterios de repetición y descarte no son rígidos, por el carácter tan variable de los datos y las incertidumbres asociadas, además de la imposibilidad de repetir muchos ensayos de una red de puntos tan extensa, no aparecen fronteras delimitadas para los resultados descartados y aceptados en la figura.

Entre los criterios de control descritos anteriormente, se considera el valor de DQO como más representativo, ya que se ha observado que tiene mayor sensibilidad a las composiciones inusuales de las muestras que el resto, tanto para los episodios de lluvia con diluciones importantes como para los picos de contaminación.

Esta información analítica también se complementa con observaciones en campo, que en muchas ocasiones alertan de caudales inferiores o superiores a lo habitual (posibles operaciones de mantenimiento aguas arriba) o color inusual de la muestra (posibilidad de vertidos industriales), por nombrar algunos ejemplos.

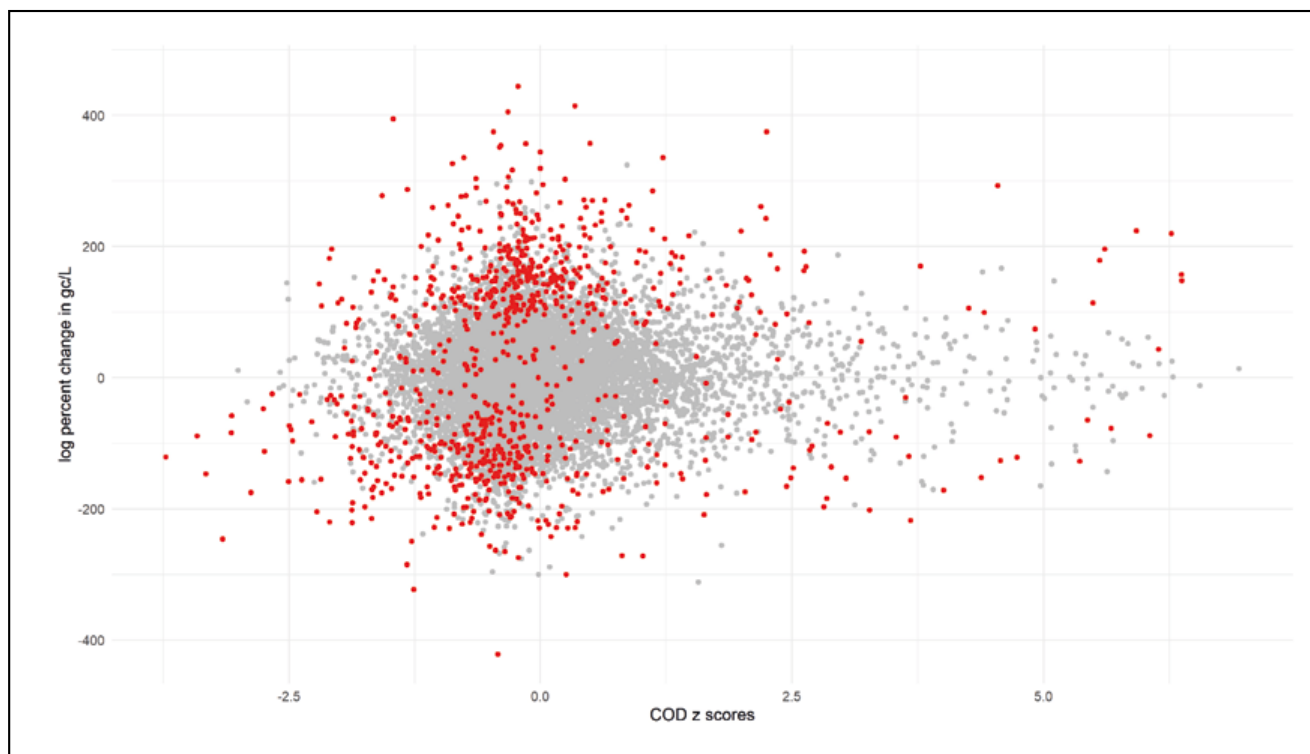


Figura 8. Muestras descartadas (rojo) en términos de % de cambio según valores estandarizados de DQO.

4.2. Agregación de series temporales

Dado que se muestrea un subconjunto de puntos cada día de la semana, se establece una serie diaria de resultados con las siguientes consideraciones:

- La señal se estima constante en los días entre tomas.
- Cuando el lapso entre dos muestras excede el período de 7 días (por repetición de la muestra o alguna dificultad en el trabajo de campo), los resultados se extrapolan para completar la información restante, aplicando la pendiente de la serie de promedios móviles para los dos resultados anteriores.

Luego, las series para diferentes puntos se agregan y normalizan en función de los datos de población que contiene cada cuenca asociada a cada punto de muestreo y, como resultado, se compara una señal global agregada con los siguientes indicadores sanitarios: las hospitalizaciones diarias y las tasas de incidencia.

4.3. Tasas de incidencia

Una fuente importante de información sobre la evolución de la pandemia son las tasas de incidencia reportadas por los organismos de salud pública. De todos los indicadores disponibles, se observó una relación significativa entre la concentración de ARN de SARS-CoV-2 en las aguas residuales y las tasas de incidencia acumuladas a 14 días con infección activa. Los casos positivos notificados se registran como casos con infección activa en cualquiera de los siguientes escenarios (Ministerio de Sanidad, Instituto de Salud Carlos III, 2020):

- Personas con síntomas compatibles con COVID-19 y prueba diagnóstica de infección activa positiva

- Personas asintomáticas con prueba diagnóstica de infección activa positiva e IgG negativa o sin prueba de anticuerpos.

La información proporcionada por los casos activos notificados ofrece una buena imagen en términos de evaluar la propagación de la infección. Sin embargo, los ensayos clínicos se encuentran sujetos a protocolos determinados por las autoridades competentes, que pueden variar dependiendo de cómo se esté desarrollando la pandemia.

En los momentos en los que hay un incremento relevante de casos, es habitual que las pruebas diagnósticas se vean limitadas a casos sintomáticos y contactos estrechos, de forma que se pueda satisfacer el balance entre el aumento de demanda y la escasez de pruebas. A esta circunstancia hay que añadir aquellos casos que, bien por ser asintomáticos, bien por presentar una sintomatología leve, no son diagnosticados, dando como resultado una infraestimación de la situación epidemiológica, que además no se produce de manera homogénea en el tiempo.

4.4. Datos de hospitalización: correlación y anticipación

Para evaluar la capacidad de las aguas residuales como un indicador de alerta temprana, la agregación de las concentraciones de ARN del SARS-CoV-2 para toda la Comunidad de Madrid también se compara con las nuevas hospitalizaciones por COVID-19 notificadas. Las series diarias de hospitalización presentan una fuerte estacionalidad semanal, por lo que se prefiere una media móvil de 7 días como indicador más robusto. A continuación, la figura 9 muestra similitudes entre ambas series, y anticipación de la curva de resultados agregados de concentración de fragmentos de genoma de SARS-CoV-2 de aguas residuales respecto de la curva de hospitalización.

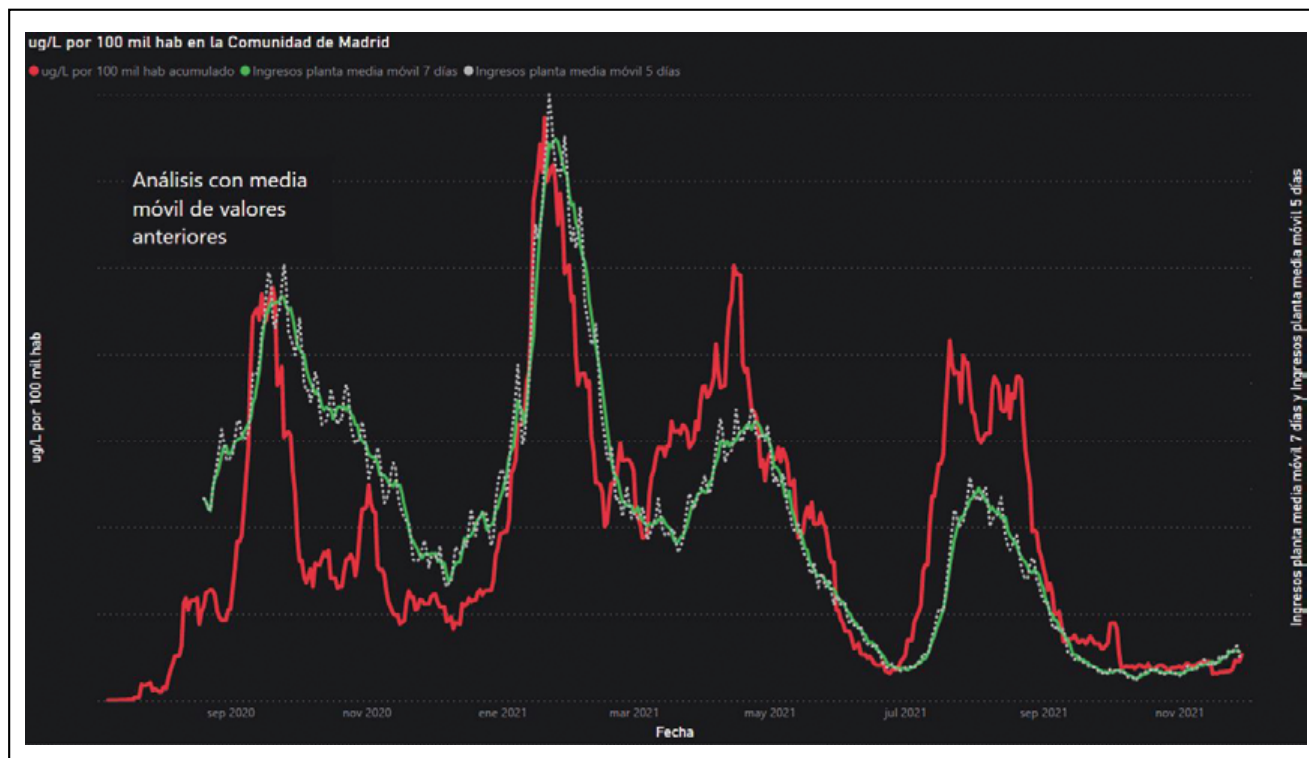


Figura 9. Porcentaje de muestras descartadas y aceptadas mensualmente.

La explicación comúnmente aceptada para este desfase entre la presencia de material genético de SARS-CoV-2 en las aguas residuales y las hospitalizaciones es que el SARS-CoV-2 se puede encontrar en las heces de los pacientes antes de la aparición de los síntomas. La anticipación de las pruebas de aguas residuales puede diferir según la ubicación, el tamaño y la población de la cuenca, las estrategias de muestreo o la temperatura, entre muchos otros factores, ya que las aguas residuales son, en general, un entorno muy heterogéneo. Los resultados oscilan entre 3 y 11 días de anticipación entre las cuencas de alcantarillado estudiadas.

5. PRÓXIMOS TRABAJOS

El trabajo futuro y ya probado incluye un sistema de vigilancia epidemiológica permanente donde se monitoreará un subconjunto de 87 puntos estratégicos de los 289 puntos de muestreo actuales y, en caso de detección de material genético del virus, se activarán puntos de vigilancia más detallados en esa cuenca para localizar puntos calientes de infección.

También se está desarrollando un estudio para analizar cuál es el decaimiento de la señal del SARS-CoV-2 en aguas residuales sin tratar, basado en un modelo de red de alcantarillado para la calidad del agua, donde se declara un conjunto de nuevos contaminantes teóricos para modelar su evolución a lo largo de la red de alcantarillado.

Además, se está trabajando en paralelo con diferentes universidades para el desarrollo de bio-sensores que sean capaces de detectar con cuantificación en tiempo real el ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales, y se está trabajando en un nuevo sistema de normalización de resultados a partir del análisis de parámetros microbiológicos como concentración de virus endógenos y en otros parámetros químicos diferentes de los monitorizados hasta la fecha.

6. CONCLUSIONES

Este estudio ha demostrado las capacidades de la epidemiología basada en aguas residuales como una herramienta de alerta temprana para la pandemia actual de COVID-19 en la Comunidad de Madrid. El sistema dispone de un total de 289 puntos de muestreo que se analizan sistemáticamente para la detección y cuantificación de la concentración de material genético de SARS-CoV-2.

El proceso de selección de los puntos de muestreo ha sido fundamental para este objetivo: siguiendo los criterios obtenidos tras una prueba piloto, se estableció que siempre que sea posible, es preferible para el diseño de la cuenca de alcantarillado que descarga sobre cada punto de muestreo un máximo de 25.000 habitantes equivalentes, 3,5 km de distancia a los núcleos de población y 2,5 km de distancia al último punto de descarga para obtener resultados óptimos.

Se ha comprobado que una estrategia de muestreo semanal ofrece una cuantificación adecuada, fijando las horas de toma de muestra para cada punto, de modo que se pueda reducir el efecto de las variaciones diarias. Sin embargo, los resultados de laboratorio deben ser validados con parámetros fisicoquímicos para detectar composiciones inusuales.

La presencia y evolución del ARN del SARS-CoV-2 en las aguas residuales muestran una fuerte conexión tanto con las tasas de incidencia de 14 días con infección activa como con las hospitalizaciones por COVID-19. La información se comparte diariamente con las autoridades sanitarias para su consulta y toma de decisiones y los resultados están disponibles como un agregado para toda la región y para cada cuenca de alcantarillado.

7. AGRADECIMIENTOS

Al Área de Análisis Medioambiental de Canal de Isabel II por su colaboración e implicación en el proyecto Vigía.

Al Área de Conservación de Canal de Isabel II por facilitar el trabajo de selección de puntos de muestreo y por el soporte al personal de laboratorio en las recogidas de muestras en los colectores visitables.

A Javier Viana y Jonatan Romero, técnicos delineantes de la Subdirección de I+D+i, por el diseño de las cuencas de alcantarillado.

Y a Celia Ortega y Mónica Ortega, de la Subdirección de I+D+i, por su colaboración en las revisiones de los artículos publicados.

8. REFERENCIAS

Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., *et al.* (2020a). First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Science of Total Environment*, Vol. 728, 138764. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>

Ahmed, W., Bertsch, P.M., Bibby, K., *et al.* (2020b). Decay of SARS-CoV-2 and surrogate murine hepatitis virus RNA in untreated wastewater to inform application in wastewater-based epidemiology. *Environmental Research*. Vol. 191, 110092. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110092>

Canal de Isabel II (2020). Innovación (11/03/21). *Mapa Vigía*. <https://www.canaldeisabelsegunda.es/mapa-vigia>.

Candel, F.J., San-Román, J., Barreiro, P., *et al.* (2021). Integral management of COVID-19 in Madrid: Turning things around during the second wave. *The Lancet*, Vol. 2, 100039. <https://doi.org/10.1016/j.lanpe.2021.100039>

Gundy, P.M., Gerba, C.P., y Pepper, I.L. (2009). Survival of coronaviruses in water and wastewater. *Food and Environmental Virology*, 1(10): pp. 10–14. <https://doi.org/10.1007/s12560-008-9001-6>

Hart, O.E., y Halden, R.U. (2020). Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. *Science of The Total Environment*, Vol. 730, 138875. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138875>

Kitajima, M., Ahmed, W., Bibby, K., *et al.* (2020). SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. *Science of The Total Environment*, Vol. 739, 139076. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076>

Kumar, M., Patel, A.K., y Shah, A.V., *et al.* (2020). First proof of the capability of wastewater surveillance for COVID-19 in India through detection of genetic material of SARS-CoV-2. *Science of The Total Environment*, Vol. 746, 141326. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141326>

La Rosa, G., Iaconelli, M., Mancini, P., *et al.* (2020). First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Science of The Total Environment*, Vol. 736, 139652. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139652>

Larsen, D.A., y Wigginton, K.R. (2020). Tracking COVID-19 with wastewater. *Nature Biotechnology*, 38, 1151–1153. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0690-1>

Lastra, A., Suárez, J., Puertas, J., *et al.* (2019). Development of a Smart System for the Operation of a Complex Sanitation System. En: G. Mannina (ed.), *New Trends in Urban Drainage Modelling*, pp. 207–212. Palermo: Springer International Publishing.

Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., y 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 Netherlands. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(7): pp. 511–516. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>

Ministerio de Sanidad/Instituto de Salud Carlos III (2020). Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. Madrid: Ministerio de Sanidad/Instituto de Salud Carlos III.

Peccia, J., Zulli, A., Brackney, D.E., *et al.* (2020). Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics. *Nature Biotechnology*, 38, 1164–1167. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0684-z>

Sherchan, P., Shahin, S., Ward, L.M., *et al.* (2020). First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA. *Science of The Total Environment*. 743, 140621. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140621>

The Water Research Foundation (WRF) (2020). *Wastewater Surveillance of the COVID-19 Genetic Signal in Sewersheds*. Denver (CO/USA): The Water Research Foundation.

Worldometer (2020). Worldometer Coronavirus (02/04/20). <https://www.worldometers.info/coronavirus/country/spain/>