

Informe del Comité Técnico Red Andaluza de Vigilancia de Aguas Residuales de la Provincia de Córdoba como indicador de alerta temprana de la propagación del COVID-19

Semana 51: 20 a 26 de diciembre de 2.021

Semana 52: 27 de diciembre de 2021 a 2 de enero de 2.022

Introducción

El objetivo principal de la red es estudiar la correlación entre el material genético detectado en aguas residuales y la incidencia acumulada (IA) de casos a los efectos de analizar si este indicador puede ser válido como:

1. Indicador de alerta temprana.
2. Indicador para medir efectividad de las medidas adoptadas para la contención de la propagación del virus.
3. Indicador de ayuda a la toma de decisiones sobre dónde realizar cribados masivos.
4. Indicador que correlacione el número de copias de material genético con la incidencia acumulada.

En la provincia de Córdoba el estudio de SARS-CoV-2 en aguas residuales se concreta en los municipios de Lucena y Córdoba, si bien el análisis en aguas se está realizando, por el momento, solo en el municipio de Córdoba.

Metodología para calcular el número de casos confirmados de covid-19, su análisis y representación geográfica.

La fuente de datos de los casos de covid-19 es la aplicación informática Redalerta, en la que constan todos los datos de cada persona que tiene un diagnóstico confirmado de covid-19 según los métodos de diagnóstico reconocidos. En el momento actual se dispone de dos pruebas de detección de infección activa: una prueba rápida de detección de antígenos (Antigen Rapid diagnostic test, Ag-RDT) y una detección de ARN viral mediante una RT-PCR o una técnica molecular equivalente.

Redalerta almacena las coordenadas UTM del lugar de residencia de la mayoría de los casos confirmados, lo que nos permite su representación geográfica. Aquellos casos en los que no consta las coordenadas UTM se localizan manualmente, aunque queda un porcentaje inferior al 1% de los casos cuyas coordenadas no pueden ser identificadas.

Los criterios de selección de los puntos de toma de muestra de aguas residuales se expresan en el apartado específico que se muestra en este informe y se resumen en el anexo I.

El objetivo inicial de relacionar los datos de cada cuenca con las unidades de gestión clínica (UGC) consideramos que introduce un gran sesgo ya que no coinciden ni el área ni la población de ambas. Por ello,





hemos optado por calcular la población de cada cuenca de vertido, representar los casos nuevos de covid-19, contarlos y calcular la incidencia acumulada por cuenca.

La empresa municipal de gestión de aguas, EMACSA, ha elaborado la representación gráfica de cada una de las cuencas de vertido en los que existe un punto de toma de muestras, lo que ha permitido mejorar la exactitud de los datos.

Con el fin de relacionar los resultados analíticos de las copias genómicas de SARS-CoV-2 en aguas residuales de cada punto de muestreo con los casos de covid-19 confirmados, es necesario conocer la población que vierte aguas residuales en cada una de las cuencas. Para ello, se ha optado por la representación geográfica de los datos y el análisis de los mismos por medio de un Sistema de Información Geográfica, que en nuestro caso es la aplicación QGIS en su versión 3.4.6.

En el programa QGIS se representan las cuencas sobre una ortofotografía de Andalucía y a su vez sobre una malla de población, de 250 m x 250 m, en la que se conoce la población residente según el padrón municipal a 1 de enero de 2020. Conocida la población, se representa geográficamente los nuevos casos confirmados acumulados durante 14 días en cada cuenca de vertido. Al conocer el número de casos confirmados en ese periodo de cada cuenca y, habiendo calculado previamente la población de cada una de ellas, calculamos la incidencia acumulada en 14 días de las cuencas objeto del estudio (número de casos confirmados * 100.000 / población).

Consideraciones del estudio en el municipio de Córdoba:

En el municipio de Córdoba, la Empresa Municipal de Aguas de Córdoba S.A (Emacsa) toma muestras simples de aguas residuales (no compuestas), y son remitidas para su análisis al departamento de genética de la Universidad de Córdoba (Grupo de Genómica y Biotecnología Animal).

Datos de la técnica empleada en el análisis de las aguas residuales:

Se sigue el protocolo de Randazzo et al. 2020, por el que mediante RT-qPCR se cuantifican las copias de fragmentos de genes del virus presente en las muestras de aguas residuales que han sido previamente concentradas. A continuación se lleva a cabo la extracción de ARN vírico empleando el kit CVX™ Viral RNA Extraction Kit (Canvax) y se procede a la cuantificación del virus empleando tres dianas víricas (**ORF1; Proteína S, Proteína N**) que proporciona el kit TaqMan™ 2019-nCoV Assay v1 (Applied Biosystems).

El resultado para el SARS-CoV-2 se determina de la siguiente manera:

- **NEGATIVO**→ Las dianas determinadas (ORF1, S y N) son negativas.
- **POSITIVO**→ Hay detección robusta para una de las dianas (ORF1, S y N), o detección para dos de las dianas, aunque la determinación sea por debajo del límite de cuantificación.
- **PRESUNTO POSITIVO**→ Solo hay detección para una de las dianas, y esta no es muy robusta, siendo una diana positiva y las otras dos negativas.



El límite de cuantificación, que es la cantidad más pequeña del analito (ARN del virus) que se puede cuantificar por la técnica utilizada (RT-qPCR) de forma reproducible y confiable, es:

- Para la diana ORF 1: $3.67 \log_{10} \text{cg/L}$
- Para la diana S: $2.52 \log_{10} \text{cg/L}$
- Para la diana N: $3.50 \log_{10} \text{cg/L}$

La concentración vírica más baja del SARS-CoV-2 (copias genómicas equivalentes o ECG) que puede detectar el kit TaqPath™ COVID-19 son 10 ECG.

Criterios para evaluar la evolución de los datos obtenidos en las aguas residuales:

Los resultados obtenidos tras el análisis de las muestras son cuantificados por los laboratorios como copias genómicas de SARS-CoV-2 por litro (cg/l). Los datos se transforman a escala logarítmica ($\log_{10} \text{cg/l}$) debido a las magnitudes y rangos de los datos, las características de las poblaciones microbianas y la forma de propagación de las enfermedades infecciosas en la población.

Para evidenciar la evolución de los datos, se calcula la variación a partir de la diferencia de cuantificación en unidades genómicas de copias de ARN de cada cuenca de muestreo respecto a la semana anterior. Los resultados pueden mantenerse estables, aumentar o disminuir, en función de las siguientes categorías:

Variación	Unidades logarítmicas de diferencia
Aumento significativo	Más de +1
Aumento	Entre + 0,4 y +1
Estable	Entre - 0,4 y + 0,4
Disminución	Entre - 0,4 y -1
Disminución significativa	Menos de -1

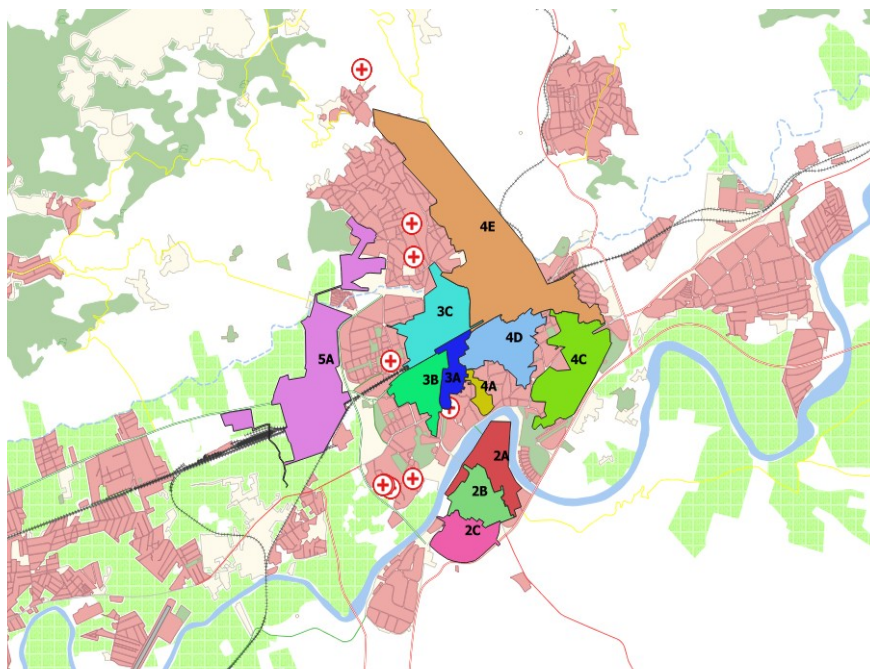


Puntos de toma de muestras:

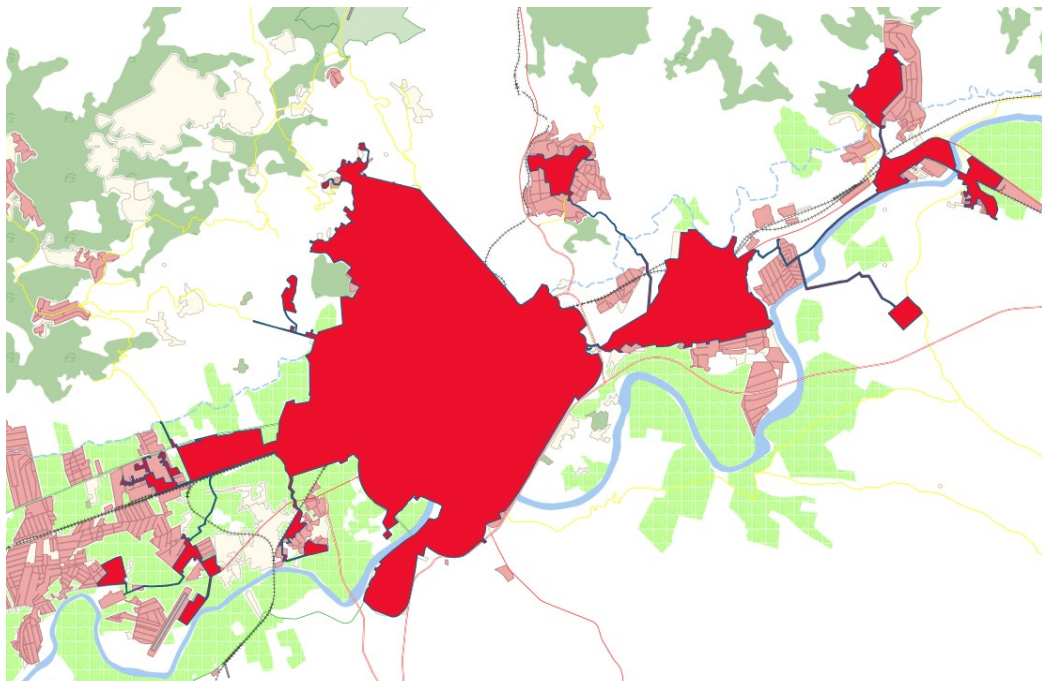
Siguiendo los criterios establecidos en *Acuerdo de 7 de julio de 2020, del Consejo de Gobierno, por el que se toma conocimiento del informe de la Consejería de Salud y Familias sobre la creación de la Red Andaluza de Vigilancia de Aguas Residuales como indicador de alerta temprana de la propagación del COVID-19 (Boja n.º 132, de 10 de julio de 2020)*, se han seleccionado doce puntos de muestreo, uno en la EDAR, y los once restantes en la ciudad de Córdoba que recogen las aguas de vertido de once zonas de la ciudad, así:

- Se han excluido las áreas de influencia de los hospitales y la mayoría de las zonas industriales.
- Se han incluido todas las zonas desfavorecidas de la ciudad de Córdoba, que corresponden con la barriada de las Palmeras (cuenca 5), Las Moreras (cuenca 3C) y Distrito Sur Córdoba (que se incluye en las cuencas 2B, 2C y parte de la 2A).
- Se han incluido once residencias de mayores. En las cuencas 2A, 2C, 3A, 3C, 4A, 4E y 5 se encuentra una residencia en cada una de ellas, en la cuenca 4D hay tres residencias y en las cuencas 2B, 3B y 4C no existen residencias. No se han podido incluir más debido a que coincidían con las áreas de influencia de los hospitales o por otros criterios de selección.
- Se ha tenido en cuenta la concentración de población y la incidencia de COVID.

En el **anexo I** se relaciona cada cuenca con los barrios, residencias de mayores, zonas desfavorecidas, centros de salud, unidades de gestión clínicas y población asociada a las mismas.



Gráfica 1: Representación de las cuencas de vertido seleccionadas para la toma de muestras en aguas residuales, con identificación de los nombres de las cuencas y la localización geográfica (con una cruz roja) de los hospitales de la ciudad de Córdoba.



Gráfica 2: Representación de la cuenca de vertido de la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) “La Golondrina”.

Días y horas de toma de muestras:

La hora de toma de muestras en los diferentes puntos se ha tenido en cuenta atendiendo al periodo de máxima carga y el tiempo y recorrido de las aguas residuales hasta ese punto de muestra. Las toma de muestra se realizan a la misma hora todas las semanas con una oscilación máxima de un cuarto de hora.

Se han tomado las muestras en dos días por la imposibilidad logística de tomar las doce muestras en un mismo día, no obstante se ha tenido en cuenta que cada cuenca se muestree el mismo día de la semana, martes o jueves.

Toma de muestras: MARTES	
Cuenca	Hora
2B	11:00
2C	11:15
2A	11:30
3C	12:00
EDAR	12:00
5	12:30

Toma de muestras: JUEVES	
Cuenca	Hora
4E	11:00
4D	11:15
4A	11:30
4C	12:00
3A	12:15
3B	12:30

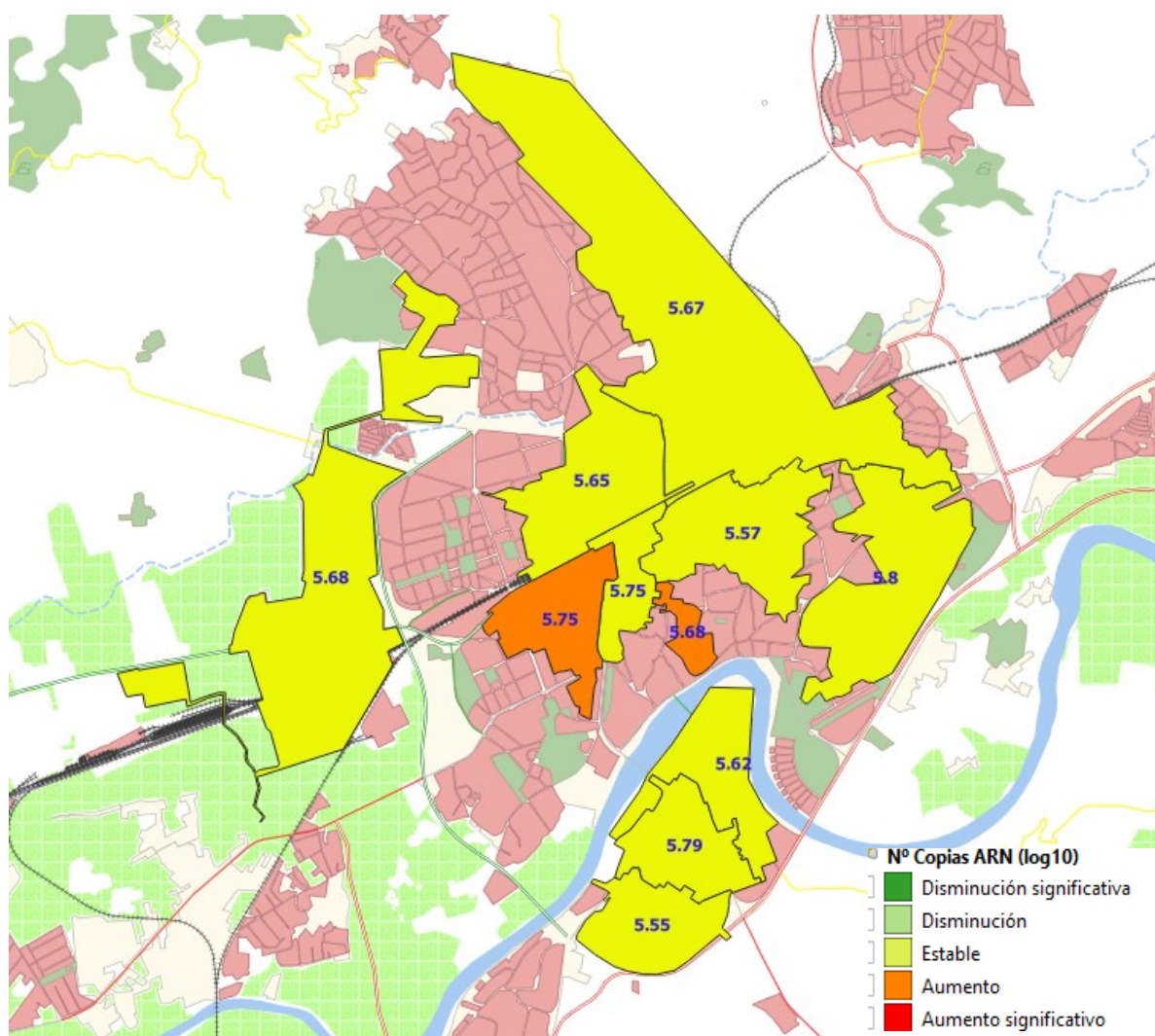


Representación gráfica del número de copias de ARN en aguas residuales:

En estos mapas se representan geográficamente los resultados analíticos del estudio de ARN en aguas residuales en los puntos de muestreo que recogen las aguas residuales de las cuencas seleccionadas, tanto las que se muestrean los martes como los jueves.

Se representa en color la variación en el número de copias, que se calcula a partir de la diferencia de cuantificación en unidades genómicas de copias de ARN respecto a la semana anterior. Los resultados pueden mantenerse estables, aumentar o disminuir, y se representan según el color correspondiente. Además se etiquetan las cuencas con el número de copias de ARN de la semana de estudio.

Mapa de la semana 51 (días de toma de muestras 20/12/2021 y 21/12/2021):



Gráfica 5: Número de copias genómicas de SARS-CoV-2 por litro de agua residuales, transformado a escala logarítmica ($\log_{10}$ cg/l) de la semana 51 y variación en el número de copias genómicas de la semana 50 a la semana 51.

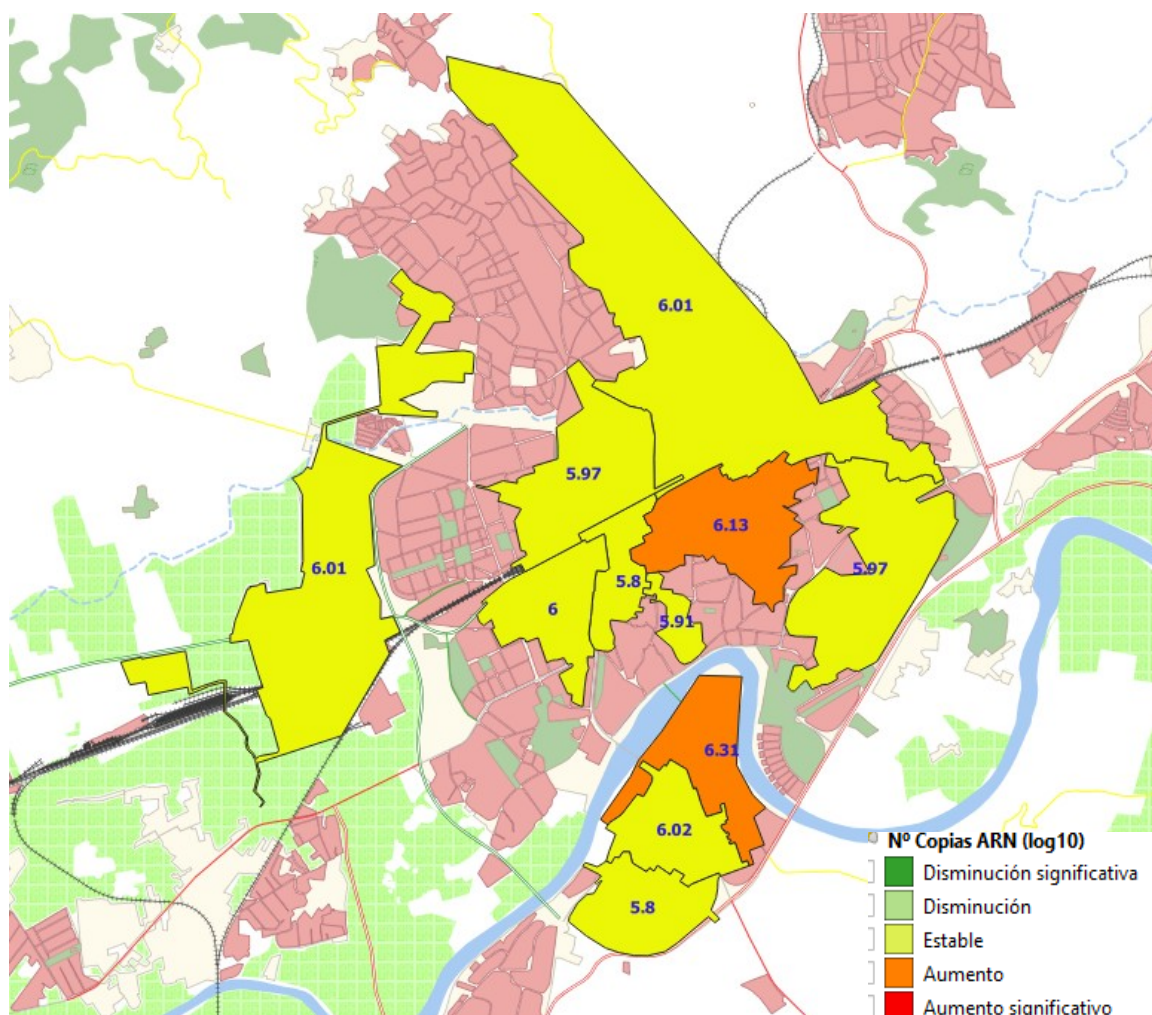


En la semana 51 se observa un aumento en el número de copias de ARN en aguas residuales en 2 cuencas (cuencas 3B y 4A). El resto de las 10 cuencas se mantienen estables pero en la mayoría con variaciones positivas: 3 cuencas con variaciones entre 0,10 y 0,20, 2 cuencas con variaciones entre 0,20 y 0,30 y 3 cuencas con variaciones entre 0,30 y 0,40.

En todas las cuencas se detectan copias de ARN en las aguas residuales.

Se incluyen en este resumen los datos del número de copias de ARN de las aguas residuales de la EDAR aunque no están representados en la gráfica 5.

Mapa de la semana 52 (días de toma de muestras 27/12/2021 y 28/12/2021):



Gráfica 6: Número de copias genómicas de SARS-CoV-2 por litro de agua residuales, transformado a escala logarítmica ($\log_{10}$ cg/l) de la semana 52 y variación en el número de copias genómicas de la semana 51 a la semana 52.



En la semana 52 se observa un aumento en el número de copias de ARN en aguas residuales en 3 cuencas (cuencas EDAR, 2A y 4D). El resto de las 9 cuencas se mantienen estables pero en la mayoría con variaciones positivas: 1 cuenca con variaciones entre 0,10 y 0,20, 4 cuencas con variaciones entre 0,20 y 0,30 y 3 cuencas con variaciones entre 0,30 y 0,40.

En todas las cuencas se detectan copias de ARN en las aguas residuales.

Se incluyen en este resumen los datos del número de copias de ARN de las aguas residuales de la EDAR aunque no están representados en la gráfica 5.

Discusión

En el **anexo II** se representan estos mismos datos de forma gráfica, los resultados analíticos de aguas residuales ($\log_{10}$ cg/l) se muestran como barras y la incidencia acumulada en 14 días de covid-19 como líneas. A continuación se resumen los datos principales de los últimos cinco muestreos realizados por cuenca de vertido.

EDAR		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN ($\log_{10}$ cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	28/12/2021	308.770	7.245	2.346,41	1.266,31	6,06	0,49	Aumento
Sem. 51	20/12/2021	308.770	3.335	1.080,09	626,03	5,57	0,16	Estable
Sem. 50	14/12/2021	308.770	1.402	454,06	179,10	5,41	-0,19	Estable
Sem. 49	07/12/2021	308.770	849	274,96	35,95	5,60	0,35	Estable
Sem. 48	30/11/2021	308.770	738	239,01	48,26	5,25	0,33	Estable

2 A		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN ($\log_{10}$ cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	28/12/2021	10.836	258	2.381	1.226,32	6,31	0,69	Aumento
Sem. 51	20/12/2021	10.826	125	1.155	738,58	5,62	0,19	Estable
Sem. 50	14/12/2021	10.816	45	416	184,70	5,43	0,33	Estable
Sem. 49	07/12/2021	10.806	25	231	-28,00	5,10	5,10	Aumento significativo
Sem. 48	30/11/2021	10.796	28	259	-0,24	0,00	0,00	Estable



2 B		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	28/12/2021	15.088	313	2.074	1.179,75	6,02	0,23	Estable
Sem. 51	20/12/2021	15.088	135	895	556,73	5,79	0,33	Estable
Sem. 50	14/12/2021	15.088	51	338	99,42	5,46	0,21	Estable
Sem. 49	07/12/2021	15.088	36	239	92,79	5,25	-0,08	Estable
Sem. 48	30/11/2021	15.088	22	146	39,77	5,33	-0,03	Estable

2 C		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	28/12/2021	10.280	236	2.296	1.118,68	5,80	0,25	Estable
Sem. 51	20/12/2021	10.280	121	1.177	603,11	5,55	-0,09	Estable
Sem. 50	14/12/2021	10.280	59	574	155,64	5,64	0,05	Estable
Sem. 49	07/12/2021	10.280	43	418	87,55	5,59	0,29	Estable
Sem. 48	30/11/2021	10.280	34	331	214,01	5,30	-0,03	Estable

3 A		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	30/12/2021	5.819	141	2.423	1.099,85	5,80	0,05	Estable
Sem. 51	21/12/2021	5.819	77	1.323	549,92	5,75	0,29	Estable
Sem. 50	16/12/2021	5.819	45	773	412,44	5,46	0,38	Estable
Sem. 49	09/12/2021	5.819	21	361	120,30	5,08	5,08	Aumento significativo
Sem. 48	02/12/2021	5.819	14	241	103,11	0,00	0,00	Estable

3 B		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	30/12/2021	19.774	430	2.175	945,69	6,00	0,25	Estable
Sem. 51	21/12/2021	19.774	243	1.229	470,31	5,75	0,57	Aumento
Sem. 50	16/12/2021	19.774	150	759	359,06	5,18	5,18	Aumento significativo
Sem. 49	09/12/2021	19.774	79	400	40,46	0,00	0,00	Estable
Sem. 48	02/12/2021	19.774	71	359	111,26	0,00	-5,22	Disminución significativa



3 C		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	28/12/2021	22.311	514	2.304	1.246,02	5,97	0,32	Estable
Sem. 51	20/12/2021	22.311	236	1.058	690,24	5,65	0,31	Estable
Sem. 50	14/12/2021	22.311	82	368	197,21	5,34	5,34	Aumento significativo
Sem. 49	07/12/2021	22.311	38	170	76,20	0,00	0,00	Estable
Sem. 48	30/11/2021	22.311	21	94	22,41	0,00	0,00	Estable

4 A		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	30/12/2021	2.862	45	1.572	873,52	5,91	0,23	Estable
Sem. 51	21/12/2021	2.862	20	699	454,23	5,68	0,46	Aumento
Sem. 50	16/12/2021	2.862	7	245	34,94	5,22	0,38	Estable
Sem. 49	09/12/2021	2.862	6	210	69,88	4,84	-0,16	Estable
Sem. 48	02/12/2021	2.862	4	140	69,88	5,00	5,00	Aumento significativo

4 C		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	30/12/2021	35.252	947	2.686	1.409,85	5,97	0,17	Estable
Sem. 51	21/12/2021	35.252	450	1.277	660,96	5,80	0,31	Estable
Sem. 50	16/12/2021	35.252	217	616	371,61	5,49	0,20	Estable
Sem. 49	09/12/2021	35.252	86	244	-22,69	5,29	0,64	Aumento
Sem. 48	02/12/2021	35.252	94	267	59,57	4,65	4,65	Aumento significativo

4 D		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	30/12/2021	26.107	681	2.608	1.294,67	6,13	0,56	Aumento
Sem. 51	21/12/2021	26.107	343	1.314	746,93	5,57	0,04	Estable
Sem. 50	16/12/2021	26.107	148	567	256,64	5,53	0,03	Estable
Sem. 49	09/12/2021	26.107	81	310	72,78	5,50	0,04	Estable
Sem. 48	02/12/2021	26.107	62	237	72,78	5,46	0,32	Estable



4 E		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	30/12/2021	37.625	993	2.639	1.411,30	6,01	0,34	Estable
Sem. 51	21/12/2021	37.625	462	1.228	611,30	5,67	0,19	Estable
Sem. 50	16/12/2021	37.625	232	617	358,80	5,48	0,29	Estable
Sem. 49	09/12/2021	37.625	97	258	50,50	5,19	-0,28	Estable
Sem. 48	02/12/2021	37.625	78	207	15,95	5,47	0,09	Estable

5 A		Población	Casos 14 días	I.A. 14 días	Variación I.A.	Copias ARN (log10 cg/l)	Promedio variación (Ulog)	Variación copias ARN
Sem. 52	28/12/2021	15.210	384	2.525	1.209,73	6,01	0,33	Estable
Sem. 51	20/12/2021	15.210	200	1.315	874,42	5,68	0,20	Estable
Sem. 50	14/12/2021	15.210	67	440	223,54	5,48	-0,15	Estable
Sem. 49	07/12/2021	15.210	33	217	26,30	5,63	0,31	Estable
Sem. 48	30/11/2021	15.210	29	191	6,57	5,32	0,22	Estable

El estudio de la vigilancia de las aguas residuales de la ciudad de Córdoba se lleva realizando con esta metodología de trabajo desde el 12/01/2021.

Tanto los resultados de la incidencia acumulada como los resultados del número de copias de ARN en aguas residuales pueden verse afectados por diversas variables, entre ellas destacamos:

Excreción del virus: Según documentación publicada en la página web del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, la duración media del virus en la heces es de 22 días, sin embargo no todos los pacientes covid-19 positivos excretan ARN en las heces, y la cantidad de virus y la duración varía de unos individuos a otros.

Precipitaciones: Aunque es un factor importante de dilución, en las muestras que se han tomado los días de lluvia no se ha observado una disminución acusada del número de copias de ARN, si bien, no han sido lluvias abundantes.

Temperatura del agua residual: A mayor temperatura, mayor degradación del material genético. Está estrechamente relacionada con la temperatura ambiente que durante el periodo de estudio se ha mantenido más o menos estable con algunos días de temperaturas primaverales. También a mayor temperatura ambiente se hace un mayor uso de agua de bebida y de aseo personal por lo que aumenta el volumen de agua en la red de saneamiento y por tanto una mayor dilución del material genético del SARS-CoV-2.



Tamaño de la cuenca: A mayor tamaño de la cuenca hay mayor degradación potencial del material genético debido al recorrido en la red de saneamiento. Las cuencas más amplias son la 4E, 5A y la EDAR, y las más pequeñas la 3A y 4A, pero no se ha encontrado diferencias significativas.

Características de la red de saneamientos, infiltraciones en la red, composición de las aguas residuales y sólidos en suspensión: Son factores que no podemos cuantificar y por lo tanto desconocemos en qué medida pueden explicar la variabilidad de datos que hemos obtenido.

Movilidad: Los desplazamientos y los hábitos conductuales de la población influyen en los niveles detectados de copias de material genético en las aguas residuales.

Vertidos procedentes de industrias: Estos vertidos pueden alterar las características físico-químicas de las aguas residuales que llegan a las cuencas y degradar el material genético, solo la cuenca 5A y la EDAR podrían verse afectadas, ya que no existen polígonos industriales las áreas de influencia del resto de cuencas.

Vertidos de productos químicos procedentes de los hogares y otros establecimientos: Los tratamientos de desinfección que se producen tras brotes en residencias de mayores, colegios y empresas, así como de forma general el aumento de la limpieza y desinfección debida a la pandemia que se viene realizando en los establecimientos de restauración, instalaciones deportivas y hogares... favorecen la degradación del material genético del virus. Si la toma de muestras coincide con el vertido de altas concentraciones de desinfectantes puede alterar completamente el resultado.

Tipo de muestreo, momento óptimo para la toma de muestras y logística para entregar las muestras al laboratorio: Las muestras son siempre simples y la hora de tomas de muestra de una semana a otra oscila como máximo 15 minutos de la hora establecida en cada punto de muestreo.

Métodos analíticos y nuevas variantes del SARS-CoV-2: No se ha cambiado de laboratorio ni de protocolo (Randazzo et al. 2020). Se pueden producir incidencias puntuales relativas a la técnica analítica que afecten a los niveles detectados en las aguas residuales.

En algunas ocasiones se están encontrando dificultades de diagnóstico cuando solo se detecta una de las sondas de las tres que se analizan y esta sonda no alcanza niveles significativos de detección. El hecho de no detectar en algunas muestras todas las sondas podría estar relacionado con la aparición de las nuevas cepas de SARS-CoV 2.

Casos covid no diagnosticados: Se desconoce cual es la proporción de personas infectadas no diagnosticadas, la incidencia acumulada en 14 días no es el valor real de personas infectadas. Puede que el número de copias de ARN sean más acorde a la realidad, pero se desconoce este dato ya que no se han realizado cribados en las área de influencia de ninguna cuenca para comparar los resultados.

Casos covid no referenciados geográficamente: estimamos un porcentaje inferior al 1 % el de casos que no se ha podido identificar las coordenadas geográficas de la vivienda de residencia, por lo que no se incluyen como casos asociados a ninguna cuenca de vertido.