

QUANTIFICAÇÃO DE VÍRUS ENTÉRICOS EM ESGOTO BRUTO E TRATADO NA CIDADE DE GOIÂNIA

Graziela Bordoni^{a,}, Tales Bernardino^b, Lilian Carneiro^a, Lucas Gonçalves^c, Ysabella Reis^b, Pedro Cerqueira^d, Paulo Scalize^b*

^aUniversidade Federal de Goiás – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Goiânia-Goiás, Brasil

^bUniversidade Federal de Goiás – Escola de Engenharia Civil e Ambiental, Goiânia-Goiás, Brasil

^cUniversidade Federal de Goiás – Faculdade de Medicina, Goiânia-Goiás, Brasil

^dSaneamento de Goiás S.A, Goiânia-Goiás, Brasil

Resumo

A pesquisa de vírus entéricos poderá ser empregada como uma possibilidade para avaliar a qualidade sanitária do esgoto bruto e do efluente tratado. Desta forma, o objetivo do presente trabalho é apresentar a quantidade de vírus entéricos no esgoto bruto e tratado da Estação de Tratamento de Esgoto Goiânia (ETE Goiânia), Goiás – Brasil, e comparar com dados da literatura. Para isso, foram coletadas duas amostras de esgoto bruto e duas amostras de esgoto tratado, às 8h e às 11h da manhã, horário de menor e maior vazão desta ETE, respectivamente. Logo após, as amostras foram submetidas à análise quantitativa de *Rotavírus* do grupo A, *Adenovírus* sorotipo 5 (Espécie C) e *Enterovírus*, por meio de testes moleculares. Como resultados, quando comparado esgoto bruto vs esgoto tratado, obteve-se uma média de $0,87 \times 10^7$ CG/L vs. $1,15 \times 10^7$ CG/L, para Rotavírus; Adenovírus = $2,15 \times 10^7$ CG/L vs. $2,45 \times 10^7$ CG/L e Enterovírus = $0,53 \times 10^7$ CG/L vs. $1,4 \times 10^7$ CG/L. Concluiu-se que as quantidades de cópias genômicas encontradas foram compatíveis com os valores reportados na literatura e que o processo atual da ETE Goiânia não apresentou eficiência na remoção dos vírus pesquisados.

Palavras-Chave: adenovírus, contaminação fecal, enterovírus, esgoto, rotavírus.

doi: 10.22181/aer.2022.1103

* Autor para correspondência
E-mail: grazip.bordoni@gmail.com

QUANTIFICATION OF ENTERIC VIRUS IN RAW AND TREATED SEWAGE IN GOIÂNIA CITY

Graziela Bordoni^{a,}, Tales Bernardino^b, Lilian Carneiro^a, Lucas Gonçalves^c, Ysabella Reis^b, Pedro Cerqueira^d, Paulo Scalize^b*

^aFederal University of Goiás – Institute of Tropical Pathology and Public Health, Goiânia-Goiás, Brazil

^bFederal University of Goiás – School of Civil and Environmental Engineering, Goiânia-Goiás, Brazil

^cFederal University of Goiás – Faculty of Medicine, Goiânia-Goiás, Brazil

^dSanitation of Goiás S.A, Goiânia-Goiás, Brazil

Abstract

The search for enteric viruses can be used as a possibility to assess the sanitary quality of raw sewage and treated effluent. Thus, the objective of the present work is to present the amount of enteric virus in the raw and treated sewage of the Waste Water Treatment Plant (WWTP) of Goiânia city (Goiás, Brazil) and compare it with literature data. For this purpose, two samples of raw sewage and two samples of treated sewage were collected, at 8 am and at 11 am, the lowest and highest flow times of this ETE, respectively. Then, they were subjected to quantitative analysis of group A *Rotavirus*, *Adenovirus* serotype 5 (Species C) and *Enterovirus*, through molecular tests. As a result, comparing raw sewage vs treated sewage, an average of 0.87×10^7 GC/L vs. 1.15×10^7 GC/L was obtained for *Rotavirus*; *Adenovirus* = 2.15×10^7 GC/L vs. 2.45×10^7 GC/L and *Enterovirus* = 0.53×10^7 GC/L vs. 1.4×10^7 GC/L. It was concluded that the quantities of genomic copies found were compatible with the literature data and the current process of that WWTP did not show efficiency in removing the studied viruses.

Keywords: adenovirus, enterovirus, fecal contamination, rotavirus, sewage.

doi: 10.22181/aer.2022.1103

* Corresponding author
E-mail: grazip.bordoni@gmail.com

1 Introdução

As doenças veiculadas pela água causam grande preocupação para saúde pública, pois mais de 2 bilhões de pessoas usam fontes de água potável contaminadas, resultando em 485 000 mortes por diarreia anualmente (OMS 2019). O esgoto *in natura* despejado nos recursos hídricos, comumente utilizados como fontes de água potável, no uso industrial, irrigação ou para recreação, tem contribuído para a presença de vírus entéricos patogênicos em águas superficiais e subterrâneas. Os vírus entéricos apresentam um fator de risco considerável para a saúde pública em geral, levando a surtos de doenças de veiculação hídrica e a uma alta incidência de morbidade e mortalidade (Toze 1999, Subekti et al. 2002, Brasil 2006, Hewitt et al. 2013, Cioffi et al. 2020).

Os vírus entéricos caracterizam um conjunto de diversos patógenos, responsáveis por uma variedade de doenças notificáveis em humanos. São de origem entérica, tanto humana como animal, e são transmitidos por via fecal-oral (Potgieter et al. 2020, Upfold et al. 2021). São eliminados em números extremamente elevados nas fezes, podendo uma pessoa com infecção viral entérica excretar até 10^{14} partículas virais por dia e em alguns casos de infecção, exceder 10^{15} partículas virais por dia. Podem constituir um risco para a saúde humana, pois mesmo presentes em baixas concentrações na água (1 a 10 unidades virais), promovem sua disseminação, por terem alta infetividade (Carter 2005, Fong e Lipp 2005, Lin e Ganesh 2013, Wobus 2018, Cioffi et al. 2020, Li et al. 2022).

A maioria dos vírus entéricos transmitidos pela via fecal-oral não possuem envelope, já que a rigidez da proteína que compõe o capsídeo viral confere resistência a diversos fatores ambientais, como variações de temperatura, pH, ressecamento e ação da luz UV, possibilitando a alta persistência e estabilidade no meio ambiente. Ao contrário dos vírus envelopados (por exemplo, o SARS-CoV-2), que por apresentarem uma bicamada lipídica (envelope), não sobrevivem ao ressecamento, nem a condições ácidas e nem a detergentes/solventes, que são capazes de romper o envelope viral e inativar os vírus envelopados. Assim, os vírus entéricos não envelopados são capazes de sobreviver por meses no ambiente aquático e podem ser carregados a longas distâncias na água (Carter 2005, Fong e Lipp 2005, Gomes et al. 2021, Lockhart et al. 2022).

Outro motivo que faz a maioria dos vírus entéricos não serem envelopados seria a presença, no ambiente intestinal, de uma camada de muco altamente glicosilada e densamente composta de peptídeos antimicrobianos, como as defensinas, capazes de romper o envelope viral. Além de que os vírus envelopados teriam sua membrana lipídica rompida no ambiente ácido do trato digestivo e pela ação de detergentes, como a bile (Carter 2005, Fong e Lipp 2005, Gomes et al. 2021, Lockhart et al. 2022).

Para a análise ou monitoramento da qualidade da água potável, são utilizados indicadores biológicos específicos. Os organismos indicadores de contaminação fecal na água, comumente usados são os coliformes totais, coliformes fecais e/ou *Escherichia coli* (*E. coli*). O uso de coliformes como indicadores bacterianos da qualidade microbiana da água é baseado no pressuposto de que os coliformes estão presentes em números aumentados nas fezes de humanos e outros animais de sangue quente. Caso as fezes contaminem a água potável, é provável que essas bactérias também estejam presentes. Apesar da presença de *E. coli* ser considerada um indicador adequado e específico de poluição fecal, nem sempre indicam a presença de outros patógenos no ambiente (Rigotto et al. 2010, Lin e Ganesh 2013). Designadamente, a detecção dos indicadores bacterianos, como os coliformes totais e a *E. coli*, nem sempre está correlacionada com a presença dos vírus entéricos, verificando-se nalguns casos a sua presença em águas brutas, subterrâneas, superficiais e água potável tratada, apesar de atenderem os padrões de qualidade para bactérias do grupo coliformes. Portanto, o monitoramento de vírus patogênicos em águas

é essencial para o controle de infecções por águas contaminadas (Rigotto et al. 2010, Lin e Ganesh 2013).

Existem mais de 200 vírus entéricos distribuídos na natureza. De todos, aqueles potencialmente transmitidos e detetados no ambiente, que foram propostos como indicadores de contaminação de águas residuais incluem Enterovírus (EV), vírus da Hepatite A (HAV), Rotavírus (RV), Adenovírus (HAdV) e Poliomavírus humanos (Carter 2005, Lin e Ganesh 2013, Salvador et al. 2020).

Logo, além dos indicadores bacterianos comuns, os HAdV, EV e RV são importantes patógenos de veiculação hídrica e também podem indicar contaminação fecal. Têm sido detetados em águas residuais e em diversos tipos de fontes de água para consumo em todo o mundo. Pertencem à Lista Cinco de Contaminantes Candidatos da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA 2021), apresentando alta prevalência em águas contaminadas por material fecal, mesmo não regulamentados como critério de análise nessas águas (Rigotto et al. 2010, Lima et al. 2021).

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é verificar as concentrações de vírus entéricos no esgoto bruto e tratado da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) Dr. Hélio Seixo de Britto, de Goiânia, e comparar os resultados com dados da literatura. Além disso, pretende-se observar se há alguma remoção de vírus entéricos no tratamento realizado nessa ETE.

2 Materiais e métodos

2.1 Área de estudo

A pesquisa foi realizada com o esgoto bruto e tratado da ETE Goiânia, no estado de Goiás, Brasil, a qual recebe o esgoto de 75% da cidade. Possui vazão média de 1 500 L/s e atende cerca de 1,1 milhões de habitantes. O tratamento é realizado por decantação primária quimicamente assistida, com adição de cloreto férrico e polímero aniônico, obtendo-se eficiências de remoção em torno de 50% de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e 70% de Sólidos Suspensos Totais (SST), com lançamento no Rio Meia Ponte.

2.2 Amostragem

No dia 23/07/2021 foram coletadas duas amostras pontuais de esgoto bruto e duas amostras de esgoto tratado, às 8h, contemplando o horário de menor vazão, e às 11h, representando o horário de maior vazão. As amostras foram encaminhadas para serem analisadas no Laboratório de Biotecnologia de Microrganismos (LBMic) e Multiusuário do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP).

2.3 Quantificação viral

Foram realizadas quantificação de Enterovírus, Adenovírus sorotipo 5 (Espécie C) e Rotavírus do grupo A, por meio de testes moleculares. Todos os vírus quantificados foram pesquisados como vírus exclusivamente humanos.

2.3.1 Concentração das amostras para análise viral

Para obtenção da concentração das partículas virais nas amostras de esgoto foi utilizado o método de adsorção-eluição de membranas com cargas negativa, descrito por Katayama et al. (2002), com modificações feitas por Vecchia et al. (2012). As amostras concentradas foram congeladas a -80 °C, até a etapa seguinte.

2.3.2 Extração dos ácidos nucleicos virais

A extração de DNA e RNA dos vírus foi feita utilizando o kit de extração *Quick-DNA/RNA™ Viral Kit* (ZYMO RESEARCH), seguindo as instruções do fabricante. O material genético extraído foi armazenado a -80 °C até a próxima etapa da análise.

2.3.3 Síntese de cDNA

Utilizando o kit *PlatusTranscriberRNase H-cDNAFirstStrand* (Sinapse Inc.), seguindo as instruções do fabricante, foi realizada a síntese da primeira cadeia de DNA complementar (cDNA) nas amostras, para realizar as análises de Rotavírus e Enterovírus, já que possuem em seu genoma, fita de RNA - sendo para RV, RNA de fita dupla, e para EV, RNA de fita simples (Carter 2005).

Para a reação, em um microtubo para PCR de 200 µL, foram adicionados 6 µL de Água livre de Nuclease, 1 µL de Random Hexamer Primers (100 µM, 0,2 µg/µL) e 5 µL da amostra (RNA). Este primeiro MIX foi incubado por 5 minutos a 65°C. Em seguida, foi adicionado a esta mistura, 4 µL de 5X Tampão de Reação, 1 µL de Inibidores de RNase (20 U/µL), 2 µL de 10 mM dNTPs Mix e 1 µL de H Minus Transcriptase Reversa (200 U/µL). O segundo MIX foi adicionado ao primeiro, conferindo um volume final de 20 µL e incubado em um termociclador de acordo com a sequência: 5 min a 25 °C, 60 min a 45 °C e 5 min a 70 °C.

O material da síntese de cDNA foi congelado a -80 °C até a realização do ensaio de detecção e quantificação viral.

2.3.4 Detecção e Quantificação viral

A detecção e quantificação de HAdV, EV e RV por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qPCR), foram realizadas conforme protocolo descrito por Lima et al. (2021). Utilizou-se o master mix 5x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus (ROX). As reações foram feitas com o uso do equipamento Rotor-Gene® Q modelo 5-Plex HRM da empresa QIAGEN®, e realizaram-se as análises através do Rotor-Gene Q Series® Software.

2.3.5 qPCR para HadV, EV e RV

Para a quantificação absoluta das partículas virais nas amostras, foram feitas curvas-padrão de cinco pontos. Elas foram geradas a partir da amplificação do controle-padrão de HadV, RV e da síntese do cDNA do controle-padrão de EV em diluições seriadas de fator 10 (10⁻¹ até 10⁻⁵). Para o controle-positivo de RV, não foi necessário realizar a síntese de cDNA, pois já veio sintetizada de laboratório em cDNA.

Seguindo o protocolo de Lima et al. (2021), o master mix foi preparado, utilizando-se: 4 µL do reagente do kit 5x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Supermix (Solis BioDyne); 0,4 µL de cada primer (10 pmol/µL) (forward e reverse) e 10,2 µL de água ultrapura, livre de DNase/RNase e 5 µL da amostra. O volume final da reação foi de 20 µL.

O ciclo da qPCR obedeceu as instruções do fabricante do master mix. Por meio do termociclador, seguiu-se a ciclagem: 1 ciclo a 95 °C por 12 minutos (ativação da polimerase) e 40 ciclos compostos por desnaturação a 95 °C por 15 segundos; anelamento a 62 °C de 20 segundos e alongamento a 72 °C por 20 s. No Quadro 1 estão descritos os primers utilizados na reação.

Quadro 1. Primers de HadV, EV e RV que foram utilizados para reação de qPCR

Vírus	Gene alvo	Primers				Ta* utiliza da (°C)	Tamanho fragmento (pb)
		Nome	Sequência	Polaridade	Posição		
HAdV ²	Hexon	VTB2-HAdVCf ^a	5'-GAGACGTACTTCAGCCTGAAT-3'	Sense	106-126 ^a	62	101
		VTB2-HAdVCr ^a	5'-GATGAACCGCAGCGTCAA-3'	Reverse	190-207 ^a		
EV ¹	5'UTR	ENT-F1 ^b	5'-CCTCCGGCCCCCTGAATG-3'	Sense	443-459 ^b	64	116
		ENT-R2 ^b	5'-ACACGGACACCCAAAGTAG-3'	Reverse	541-559 ^b		
GARV ³	VP6	ROTAfEEVALE-FW ^c	5'-GATGTCCTGTACTCCTTGT-3'	Sense	7-25 ^c	62	160
		ROTAfEEVALE-REV ^c	5'-GGTAGATTACCAATTCCTCC-3'	Reverse	148-167 ^c		

Fonte: ^aTsai et al. (1993); ^bWolf et al. (2010); ^cVecchia et al. (2012).

*Ta: temperatura

3 Resultados e discussão

Na Figura 1 é apresentada a vazão de entrada na ETE Goiânia, sendo que 900 L/s era a vazão na coleta das 8h e de 2.080 L/s a vazão na coleta das 11h. É importante mencionar que a vazão da primeira coleta estava baixa devido ao período de contribuição ser considerado menos expressivo, pois a maioria dos trabalhos tem início no período matutino. Além disso, a variação brusca da vazão é associada à forma de alimentação da estação, que é realizada por bombeamento.

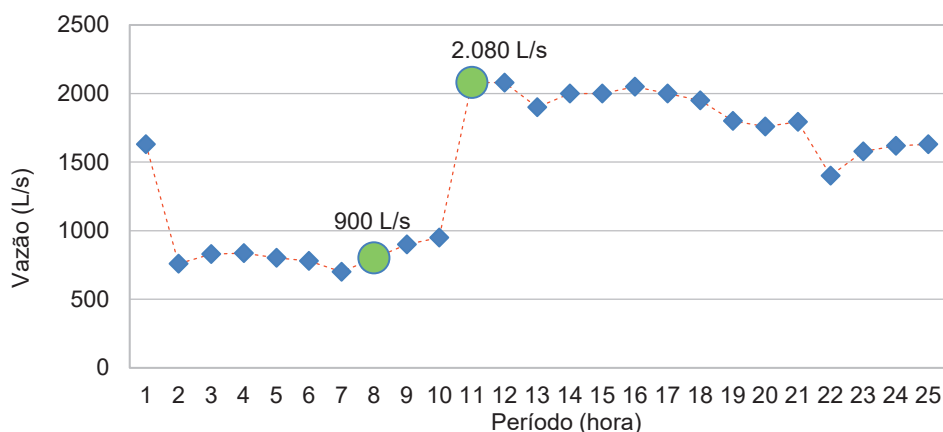


Figura 1. Vazão horária de esgoto bruto afluente a ETE Goiânia

No Quadro 2 estão expostos os resultados obtidos da caracterização viral das amostras coletadas. Os resultados são representativos quando considerados os tempos de coleta. A primeira coleta, realizada às 8 h, tem pouco dejetos, e a segunda coleta, realizada às 11 h tem um volume maior de dejetos. Segundo a ETE, este é o período de maior fluxo de resíduos. Os resultados obtidos demonstram que o HAdV apresentou maior carga viral, com concentração média de $2,15 \times 10^7$ CG/L para esgoto bruto, seguido de RV e EV. Além disso, observa-se que a carga viral apresentou aumento entre a primeira e a segunda coletas, tanto para o esgoto bruto como para o tratado, justificado pelos horários das coletas, quando às 8h a vazão é menor, podendo estar recebendo água de infiltração e de outros usos que não sejam de descarga com material fecal, o que pode ter diluído o esgoto. Em função de a ETE apresentar uma estação elevatória e também os decantadores primários, esta unidade pode funcionar como tanques de

equalização/homogeneização, fazendo com que a carga viral seja maior ou menor no efluente lançado no rio Meia Ponte.

Quadro 2. Quantificação de rotavírus, adenovírus e enterovírus em amostras de esgoto bruto e tratado pela ETE Goiânia

Horário da coleta (h)	Amostra	Rotavírus (CG/L)	Adenovírus (CG/L)	Enterovírus (CG/L)
8:00	Esgoto bruto	$0,53 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$0,2 \times 10^7$
	Esgoto tratado	$1,1 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$
11:00	Esgoto bruto	$1,2 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$0,9 \times 10^7$
	Esgoto tratado	$1,2 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$0,8 \times 10^7$
Média	Esgoto bruto	$0,87 \times 10^7$	$2,15 \times 10^7$	$0,53 \times 10^7$
	Esgoto tratado	$1,15 \times 10^7$	$2,45 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$

Apenas 50% a 90% dos vírus que estão presentes nas águas residuais conseguem ser eliminados através de certos tratamentos de esgoto, sendo ainda muito difícil conseguirem sua completa remoção com processos convencionais de tratamento. Por serem persistentes em águas residuais tratadas e não tratadas e devido à resistência aos processos convencionais, uma carga viral infecciosa significativa pode ser despejada em fontes de água que são utilizadas para fins domésticos e recreativos (Okoh et al. 2010, Kiulia et al. 2021).

Diversos são os fatores que podem influenciar na ocorrência e concentração do vírus no esgoto, como a (i) estação do ano, (ii) a incidência da infecção por aquele vírus na população atendida ou seja a carga viral da doença na população, e (iii) o uso da água. Além disso, (iv) a composição do esgoto pode favorecer ou não a sobrevivência do vírus, assim como (v) o tratamento adequado do esgoto, (vi) a disposição final do esgoto tratado, além da (vii) temperatura e do nível do pH na água. As elevadas temperaturas e extremos valores de pH podem inativar os vírus, ao desnaturar suas proteínas e ácidos nucleicos. O tamanho e estrutura da população e a localização geográfica são alguns fatores sociais que também podem afetar as concentrações virais no esgoto (Hewitt et al. 2011, Eftim et al. 2017, Haramoto et al. 2018, Rollemberg et al. 2020).

A sobrevivência dos vírus no esgoto pode estar associada à presença de matéria orgânica e de sólidos suspensos, já que os vírus podem-se adsorver às partículas, e estas podem servir como proteção contra a inativação química e biológica daqueles. Por outro lado, a adsorção dos vírus ao material particulado também os torna mais vulneráveis aos mecanismos de remoção quando o material sólido sedimenta e a sua desorção pode acarretar a sua maior presença nas águas residuais tratadas, o que pode ter ocorrido no presente estudo. O tempo e a intensidade da exposição dos vírus são vitais para sobrevivência ou não do patógeno (Metcalf et al. 1995, Okoh et al. 2010, Haramoto et al. 2018, Health Canada 2019, Rollemberg et al. 2020, Kostoglou et al. 2022).

O presente estudo comparou os horários de menor e maior vazão da ETE Goiânia (8 h e 11 h da manhã), o que pode ter influenciado na detecção da carga viral dos vírus, como descrito no Quadro 2. O período de menor vazão pode estar contribuindo para o menor valor da concentração viral encontrado para o esgoto bruto quando comparado ao esgoto tratado, já que recebe influência de outros usos, além da descarga com material fecal, que pode estar diluindo o esgoto e trazendo a presença de inibidores da qPCR causada por substâncias como ácidos húmicos e metais pesados em águas residuais, dificultando a quantificação molecular no esgoto bruto dos três vírus pesquisados (Vecchia et al. 2012, Gerba et al. 2013).

Os vírus presentes no esgoto bruto podem estar adsorvidos em partículas sólidas, facilitando a dispersão dos vírus ao longo do sistema de tratamento de esgoto e seu acúmulo com os sedimentos aumenta a persistência e sobrevivência dos vírus nesses locais. O aumento da concentração dos três vírus encontrados no período de menor vazão

(8h da manhã) no esgoto tratado (sendo inferior para adenovírus), é possível devido a uma perturbação dos sedimentos e equalização/homogeneização do efluente, devido as etapas de tratamento do esgoto, liberando os vírus de volta para a coluna de água, permitindo maior disseminação e detecção dos vírus (Upfold et al. 2021), como foi encontrado neste estudo. Além de que, através das etapas de tratamento da ETE, os inibidores da qPCR podem ter sido removidos em sua maior parte, permitindo a maior detecção no esgoto tratado.

Nota-se que no período de maior vazão (11 h) não houve diferença na detecção dos vírus entéricos entre esgoto bruto e tratado, mas quando comparado à coleta feita às 8h da manhã, houve um aumento da concentração. Como é um período em que a ETE recebe esgoto com maior vazão (2 080 L/s, mais que o dobro da vazão das 8 h da manhã), um fluxo de maior conteúdo fecal pode estar sendo recebido na ETE, havendo então uma maior concentração da carga viral no efluente, havendo aumento da detecção da carga viral nesse horário. A mesma carga viral encontrada tanto para esgoto bruto quanto tratado na coleta das 11 h da manhã, pode estar relacionada ao fato de que o tratamento utilizado na ETE seja ineficaz para a remoção dos vírus pesquisados.

Contudo, a concentração da carga viral dos vírus na ETE pode modificar amplamente devido a localização e condições de higiene da população, ao tipo de processo de tratamento e a estação do ano, o que dificulta avaliar a ocorrência de patógenos virais em águas residuais (Cioffi et al. 2020). Além do mais, as técnicas utilizadas para a detecção da carga viral não diferenciam vírus infecciosos de não infecciosos (Francy et al. 2012). Outra razão para a diferença encontrada neste estudo pode ser devido a situação epidemiológica do local, como o fator de diluição do efluente causado pela contribuição de esgoto por pessoa/dia e o conjunto de *primers* utilizados para detectar os vírus (Katayama et al. 2008).

No Quadro 3 são apresentadas as concentrações médias de HAdV, EV e RV, em esgoto bruto e tratado, encontrados na literatura. É possível verificar que as cargas virais de HAdV, EV e RV no presente trabalho para o esgoto bruto apresentaram resultados similares aos valores máximos de Piemonte (Iaconelli et al. 2016), Traverse City (Kuo et al. 2010) e Rio de Janeiro (Fumian et al. 2011). Em contrapartida, quando a concentração viral do esgoto tratado é comparada, possivelmente se verifica uma variabilidade de 10^3 para o HAdV e de 10^2 para o RV. Esse fato pode ser explicado pelas tecnologias de tratamento aplicadas.

Segundo a literatura técnica, os processos físico-químicos seguidos de decantador primário possuem pouca eficiência de remoção microbiológica, uma vez que ocorre a sedimentação apenas de partículas com velocidades de sedimentação compatíveis com o processo (Sperling 2011). Entretanto, vale lembrar que a ETE Goiânia receberá uma etapa secundária de lodos ativados que, embora não seja efetivamente projetada para a remoção de vírus (mas sim de material orgânico - DBO), pode vir a apresentar eficiências na remoção desses microrganismos. Prado et al. (2012) observaram a remoção de aproximadamente duas unidades logarítmicas de HAV pelo processo de lodos ativados convencional, em uma ETE de porte similar à do presente estudo, no Rio de Janeiro-RJ.

Em relação a cidades japonesas (Katayama et al. 2008), assim como em cidades da Espanha (Bofill-Mas et al. 2006), percebeu-se menor carga viral quando comparadas com o efluente da ETE Goiânia. É importante mencionar que, no ano da pesquisa, o Japão (Fukuda et al. 2021) e a Espanha (Gil-Prieto et al. 2013) apresentaram baixos índices de incidência de gastroenterites, podendo ser uma das razões da baixa carga viral, uma vez que genomas virais humanos são excretados em elevadas concentrações pelos doentes infectados.

Sobre o efluente do Rio de Janeiro estudado, apesar de ser hospitalar, Prado et al. (2011), notaram uma concentração dentro das faixas de outras localidades. Diferenças no quantitativo da carga viral encontrado nos estudos podem ser explicadas pelo

sequenciamento genético, identificando partículas virais específicas ou ainda pela origem do esgoto bruto, ou seja, da população que o gerou.

A respeito do efluente da ETE Goiânia, verificou-se o aumento de aproximadamente meia unidade logarítmica para concentrações médias de RV e EV do esgoto bruto para o esgoto tratado, indicando um possível acúmulo desses microrganismos nas unidades de tratamento, embora o HAdV não tenha sofrido grandes variações.

Quadro 3. Concentrações de HAdV, EV e RV em esgoto bruto e tratado apresentados na literatura, bem como a tecnologia de tratamento e vazão tratada.

Cidade (país)	Esgoto Bruto			Esgoto tratado			Tratamento do esgoto		Fonte
	HAdV	EV	RV	HAdV	EV	RV	Tecnologia	Q	
Goiânia (Brasil)	$2,1 \times 10^7$	$0,5 \times 10^7$	$0,9 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	FQ com Decantador primário	1.500	Presente trabalho
Rio de Janeiro (Brasil)	SI	SI	$2,4 \times 10^4$ a $1,2 \times 10^7$	SI	SI	$1,3 \times 10^3$ a $1,6 \times 10^5$	LA	2.500	Fumian et al. (2011)
Rio de Janeiro (Brasil)	$1,7 \times 10^5$ a $8,7 \times 10^8$	SI	$2,08 \times 10^6$ a $8,7 \times 10^8$	$2,2 \times 10^6$ a $4,6 \times 10^6$	SI	$4,5 \times 10^6$ a $7,9 \times 10^6$	LA	2,54	Prado et al. (2011)
Rio de Janeiro (Brasil)	$1,7 \times 10^5$ a $4,1 \times 10^6$	SI	$3,5 \times 10^6$ a $9,6 \times 10^9$	$1,3$ a $6,9$	SI	$1,1 \times 10^7$ a $7,1 \times 10^7$	LA	5,0	Prado et al. (2011)
Traverse City (Estados Unidos)	10^6 a 10^7	SI	SI	10^3	SI	SI	biorreator de membrana	SI	Kuo et al. (2010)
Osaka (japão)			SI			SI	LA	845 ⁽¹⁾	Katayama et al. (2008)
Quioto (japão)			SI			SI	LA	6.609 ⁽²⁾	Katayama et al. (2008)
Saitama (japão)			SI			SI	LA	1.400 ⁽²⁾	Katayama et al. (2008)
Shiga (japão)	$3,2 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$		$7,0 \times 10^3$		SI	LA + LA adicional	3.414 ⁽¹⁾	Katayama et al. (2008)
Tóquio (japão)			SI			SI	LA	324 ⁽²⁾	Katayama et al. (2008)
Ibaraki (japão)			SI			SI	LA + LA adicional	949 ⁽¹⁾	Katayama et al. (2008)
Piemonte (Itália)	$2,9 \times 10^3$ a $1,4 \times 10^7$	SI	SI	$5,1 \times 10^1$ a $1,8 \times 10^4$	SI	SI	FQ e biológico	SI	Iaconelli et al. (2016)
Piemonte (Itália)	$1,3 \times 10^3$ a $8,1 \times 10^6$	SI	SI	$2,7 \times 10^3$ a $6,6 \times 10^4$	SI	SI	FQ e biológico	SI	Iaconelli et al. (2016)
Barcelona (Espanha)	$5,9 \times 10^2$ a 9×10^3	SI	SI	SI	SI	SI	LA	833,3	Bofill-Mas et al. (2006)

Nota: SI = sem informação; HAdV – adenovírus humanos; EV – enterovírus humanos; RV- rotavírus humanos; sistema separador absoluto, recebe apenas esgoto sanitário = (1); sistema combinado, recebe água de chuva e esgoto sanitário = (2); físico-químico = FQ; lodo ativado = LA. Todos os dados sobre os vírus entéricos foram dados em CG/L. Q = vazão L/s

O esgoto bruto deve ser descontaminado antes de ser descartados ao meio ambiente, pois é uma importante fonte de patógenos entéricos. Contudo, as cargas virais não são completamente reduzidas nos processos tradicionais de tratamento, pois muito destes vírus resistem aos tratamentos físicos-químicos e desinfetantes, como a cloração e irradiação UV, sendo possível encontrar RV, EV e HAdV no esgoto tratado, como foi encontrado no período das 8 h e 11 h da manhã na ETE Goiânia. Como resultado, os vírus

resistentes aos tratamentos podem ser despejados, em altas concentrações, em corpos d'água receptores. Além disso, a infraestrutura da rede de esgoto danificada, serve como entrada para o esgoto bruto no meio ambiente (Upfold et al. 2021).

O HAdV obteve uma taxa de detecção mais elevada dentre os vírus, demonstrando ser preferível para indicar contaminação viral na água. No nosso estudo, foi utilizado um conjunto de *primers* para a detecção de HAdV da espécie C, que é associado principalmente à infecção do trato respiratório em crianças, mas que pode causar também gastroenterite (Katayama et al. 2008, Lima et al. 2021). A infecção do trato respiratório pelo Adenovírus resulta na sua excreção nas fezes de indivíduos. O HAdV-C também é excretado nas fezes indivíduos com sintomas de gastroenterites, assim como em infecções assintomáticas (Katayama et al. 2008, Lima et al. 2021).

Em águas residuais não tratadas, os Adenovírus estão presentes em números elevados (entre 10^3 a 10^8 unidades infecciosas/L) (Rames et al. 2016). O HAdV apresenta resistência aos tratamentos primário e secundário de esgoto, assim como ao tratamento terciário e à radiação UV no esgoto tratado (Garrafa 2009). Possuem alta persistência em ambientes com diferentes faixas pH (5,0-9,0), persistem em variações de temperatura entre 4 °C a 36 °C e, por serem vírus DNA de fita dupla, são resistentes em até 60 vezes a irradiações UV e aos processos de desinfecção e condições ambientais desfavoráveis, ao contrário de vírus RNA, como os Enterovírus e Rotavírus (Fong e Lipp, 2005, Girardi et al. 2019, Gholipour et al. 2022). Os adenovírus são comuns no esgoto bruto e são geralmente encontrados em todos os tipos de lodo de esgoto primário, no qual já foram encontrados em concentração dez vezes maior que a de enterovírus (Rusin et al. 2000).

A ampla disseminação do Rotavírus no ambiente pode ser explicada por sua alta taxa de excreção nas fezes, já que a população excreta os vírus em concentrações de 10^8 a 10^{11} partículas/grama de fezes, e pelo seu genoma (RNA de fita dupla), que possui maior resistência à atividade de endonuclease difusa e por radiações através da luz UV. Os RV demonstram grande resistência aos fatores ambientais e aos tratamentos físico-químicos utilizados para o tratamento de água para abastecimento e o tratamento de esgoto. Possuem resistência a alterações de pH, são inativados apenas a pH 11,5 e mantêm estabilidade a pH relativamente baixo (Fong e Lipp 2005, Espinosa et al. 2008, Cioffi et al. 2020).

As infecções causadas pelo Enterovírus Humano podem causar efeitos à saúde variando de gravidade leve até risco de vida. Foram sugeridos como parâmetro para avaliar a poluição viral das águas, pois são excretados em números elevados nas fezes de indivíduos contaminados, e são estáveis no ambiente por longos períodos de tempo. São capazes de sobreviver a condições drásticas de temperatura e pH (3 a 10). Já foram detetados em esgoto bruto e tratado e alguns estudos mostram que os Enterovírus são mais resistentes ao tratamento do que outros vírus entéricos (Wyn-Jones e Sellwood 2001, Comerlato et al. 2010, La Rosa et al. 2012).

Os enterovírus infecciosos já foram detetados em águas tratadas por meio de testes de infetividade, demonstrando potenciais riscos para a saúde pública. No entanto, o conhecimento limitado sobre a transmissão dos enterovírus pela água pode estar associado a vários fatores, como a sua influência na disseminação entre pessoas, sua variedade de sintomas clínicos, diversidade de sorotipos e infecções assintomáticas frequentes (La Rosa et al. 2012).

A maioria dos estudos sobre vírus entéricos utilizam técnicas moleculares para detectar a concentração viral nas amostras, como a qPCR, pois muitos vírus não são facilmente cultivados. Porém, não se sabe ao certo sobre os impactos causados pela contaminação por vírus entéricos presentes em esgotos sanitários, pois estes são menos estudados que as bactérias e os protozoários, uma vez que existe a necessidade de altos investimentos em equipamentos para detecção (Francy et al. 2012). No Brasil, o seu monitoramento ainda não é obrigatório, visto que não existe a Resolução CONAMA 430/2011, que dispõe sobre

os padrões de lançamento de efluentes em corpos de água receptores, não estabelece limites para vírus em esgoto tratado a ser lançado em cursos d'água.

4 Conclusões

Com base nos dados apresentados, as concentrações virais no esgoto bruto da ETE Goiânia são compatíveis com cargas virais encontradas na literatura. Conclui-se também que o tratamento realizado nesta ETE não possui eficiência na remoção dos vírus entéricos pesquisados. Os resultados positivos obtidos não significam necessariamente que os vírus detectados possam provocar efeitos adversos, uma vez que o método utilizado pode detectar tanto partículas virais infecciosas como não infecciosas, bem como ácidos nucleicos virais livres. Contudo, a carga viral do efluente tratado constitui fator indicativo de contaminação fecal e dos riscos para o meio hídrico e para a população que o utiliza para diversos fins.

Referências

- Bofill-Mas S., Albinana-Gimenez N., Clemente-Casares P., Hundesa A., Rodriguez-Manzano J., Al-lard A., Calvo M., Girones R. (2006). Quantification and stability of human adenoviruses and polyomavirus JCPyV in wastewater matrices. *Applied and Environmental Microbiology* 72 7894-7896. doi: 10.1128/AEM.00965-06.
- Brasil (2006). Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Brasília-DF, Ministério da Saúde. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf. acessado a: 27 de abril de 2021.
- Carter M. J. (2005). Enterically infecting viruses: pathogenicity, transmission and significance for food and waterborne infection. *Journal of Applied Microbiology* 98 (6) 1354-80. doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02635.x.
- Cioffi B., Monini M., Salamone M., Pollicano R., Di Bartolo I., Guida M., La Rosa G., Fusco G. (2020). Environmental surveillance of human enteric viruses in wastewaters, groundwater, surface water and sediments of Campania Region. *Regional Studies in Marine Science* 38 doi: 10.1016/j.rsma.2020.101368.
- Comerlatto J., Oliveira L. K., Spilki F. R. (2011). Enterovírus como indicadores de qualidade da água. *Revista Brasileira de Biociências* 9(1):114-125.
- Eftim S. E., Hong T., Soller J., Boehm A., Warren I., Ichida A., Nappier S. P. (2017). Occurrence of norovirus in raw sewage systematic literature review and meta-analysis. *Water Research* 111 366-374.
- Espinosa A.C., Mazari-Hiriart M., Espinosa R., Maruri-Avidal L., E Méndez., Arias C.F. (2008). Infectivity and genome persistence of rotavirus and astrovirus in groundwater and surface water. *Water Research* 42 (10-11), 2618-2628. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.01.018>.
- Fong T. T., Lipp E. K. (2005). Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools. *Microbiology and molecular biology reviews* 69 (2) 357-371. doi: 10.1128/MMBR.69.2.357-371.
- Francy D.S., Stelzer E.A., Bushon R.N., Brady A.M., Williston A.G., Riddell K.R., Borchardt M.A., Spencer S.K., Gellner T.M. (2012). Comparative effectiveness of membrane bioreactors, conventional secondary treatment, and chlorine and UV disinfection to remove microorganisms from municipal wastewaters. *Water Research* 46 (13) 4164-4178. doi: 10.1016/j.watres.2012.04.044.
- Fukuda Y., Tsugawa T., Nagaoka Y., Ishii A., Nawa T., Togashi A., Kunizaki J., Hirakawa S., Iida J., Tanaka T., Kizawa T., Yamamoto D., Takeuchi R., Sakai Y., Kikuchi M., Nagai K., Asakura

- H., Tanaka R., Yoshida M., Hamada R., Kawasaki Y. (2021). Surveillance in hospitalized children with infectious diseases in Japan: Pre- and post-coronavirus disease 2019. *Journal of Infection and Chemotherapy*. doi: 10.1016/j.jiac.2021.07.024.
- Fumian T. M., Gagliardi J. P., Rose T. L., Prado T., Miagostovich M. P. (2011). One year environmental surveillance of rotavirus specie A (RVA) genotypes in circulation after the introduction of the Rotarix vaccine in Rio de Janeiro, Brazil. *Water Research* 45 (17) 5755-5763. doi: 10.1016/j.watres.2011.08.039.
- Garrafa P. (2009). Avaliação da qualidade virológica do efluente doméstico tratado e disponibilizado para reúso na cidade de São Paulo. Tese (Doutorado Instituto de Ciências Biomédicas) - Universidade de São Paulo, São Paulo. Doi: 10.11606/T.42.2009.tde-29102009-101726. Acedido a: 24 de Abril de 2021.
- Gerba C. P., Kitajama M., Iker B. (2013). Chapter 15: Viral presence in waste water and sewage and control methods. In *Viruses in Food and Water*, Ed. N. Cook, Woodhead Publishing. ISBN 9780857094308.
- Gholipour S., Ghalhari M. R., Nikaeen M., Rabbani D., Pakzad P., Miranzadeh M. B. (2022). Occurrence of viruses in sewage sludge: A systematic review. *Science of the Total Environment*. 824 1-9. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153886.
- Gil-Prieto, R. Gonzalez-Escalada A., Alvaro-Meca A., Garcia-Garcia L., San-Martins M., González-López A., Gil-de-Miguel A. (2013). Impact of non-routine rotavirus vaccination on hospitalizations for diarrhoea and rotavirus infections in Spain. *Vaccine* 31 (43) 5000-5004. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.05.109.
- Girardi V., Demoliner M., Gularte J. S., Spilki F.R.(2019). 'Don't put your head under water': enteric viruses in Brazilian recreational waters. *New microbes and new infections* 29 1-6. DOI 10.1016/j.nmni.2019.100519. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2052297519300150?via%3Dihub>. Acesso em: 19 ago. 2021.
- Gomes A. L., Ferraz J. C., de Oliveira D. P. L. (2021). Diários de Virologia. Vitória de Santo Antão. [S.n]. ISBN 978-65-00-26401-2
- Haramoto E., Kitajima M., Hata A., Torrey J. R., Masago Y., Sano D., Katayama H. (2018). A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. *Water Research* 135 168-186. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.004>.
- Health Canada. (2019). Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document — Enteric Viruses. Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch. Ottawa, Ontario.
- Hewitt J., Leonard M., Greening G. E., Lewis G. D. (2011). Influence of wastewater treatment process and the population size on human virus profiles in wastewater. *Water Research* 45, 6267e6276.
- Hewitt J., Greening G. E., Leonard M., Lewis G. D. (2013). Evaluation of human adenovirus and human polyomavirus as indicators of human sewage contamination in the aquatic environment. *Water Research* (47) 6750-6761. doi: 10.1016/j.watres.2013.09.001.
- Iaconelli M., Muscillo M., Libera S. D., Fratini M., Meucci L., De Ceglia M., Giacosa D., La Rosa G. (2016). One-year Surveillance of Human Enteric Viruses in Raw and Treated Wastewaters, Downstream River Waters, and Drinking Waters. *Food and Environment Virology* 9 79-88. doi: 10.1007/s12560-016-9263-3.
- Katayama H., Shimasaki A., Ohgaki S. (2002). Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. *Applied and Environmental Microbiology* 68 (3) 1033-1039, 2002. doi: 10.1128/AEM.68.3.1033-1039.2002.
- Katayama H., Haramoto E., Oguma K., Yamashita H., Tajima A., Nakajima H., Ohgaki S. (2008). One-year monthly quantitative survey of noroviruses, enteroviruses, and adenoviruses in wastewater collected from six plants in Japan. *Water Research* 42 1441-1448. doi:10.1016/j.watres.2007.10.029.

- Kiulia N. M., Gonzalez R. Thompson H., Aw T. G., Rose J. B. (2021). Quantification and Trends of Rotavirus and Enterovirus in Untreated Sewage Using Reverse Transcription Droplet Digital PCR. *Food and Environmental Virology* 13 154-169. doi: 10.1007/s12560-020-09455-9.
- Kostoglou M., Petala M., Karapantsios T., Dovas C., Roilides E., Metallidis S., Papa A., Stylianidis E., Papadopoulos A., Papaioannou N. (2022). SARS-CoV-2 adsorption on suspended solids along a sewerage network: mathematical model formulation, sensitivity analysis, and parametric study. *Environmental Science and Pollution Research* 29 11304-11319. doi: 10.1007/s11356-021-16528-0.
- Kuo D. H. W., Simmons F. J., Blair S., Hart E., Rose J. B., Xagorarakis I. (2010). Assessment of human adenovirus removal in a full-scale membrane bioreactor treating municipal wastewater. *Water research* 44 (5) 1520-1530. doi: 10.1016/j.watres.2009.10.039.
- La Rosa G., Fratini M., della Libera S., Iaconelli M., Muscillo M. (2012). Emerging and potentially emerging viruses in water environments. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità* 48 (4) 397-406. doi: 10.4415/ANN_12_04_07
- Li J., Liu J., Yu H., Zhao W., Xia X., You S., Zhang J., Tong H., Wei L. (2022). Sources, fates and treatment strategies of typical viruses in urban sewage collection/treatment systems: A review. *Desalination* 354 1-16.
- Lima F. S., Scalize P. S., Gabriel E. F. M., Gomes R. P., Gama A. R., Demoliner M., Spilki F. R., Vieira J. D. G., Carneiro L. C. (2021). *Escherichia coli*, Species C Human Adenovirus, and Enterovirus in Water Samples Consumed in Rural Areas of Goiás, Brazil. *Food and Environmental Virology* 14 77-88. doi: doi.org/10.1007/s12560-021-09504-x.
- Lin J., Ganesh A. (2013). Water quality indicators: bacteria, coliphages, enteric viruses. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 23 (6) 484-506. doi: 10.1080/09603123.2013.769201.
- Lockhart A., Mucida D., Parsa R. (2022). Immunity to enteric viroes. *Imunnity* 55 (5) 800-818. doi: 10.1016/j.immuni.2022.04.007.
- Metcalf T. G., Melnick J. L., Estes M. K. (1995). Environmental virology: from detection of virus in sewage and water by isolation by molecular biology – a trip of over 50 years. *Annual Review of Microbiology* 49 461-487.
- Okoh A. I., Sibanda T., Gusha S. S. (2010). Inadequately Treated Wastewater as a Source of Human Enteric Viruses in the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7 2620-2637. doi: 10.3390/ijerph7062620.
- OMS (2019). Água para consumo humano. Organização Mundial da Saúde. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>, acessado em: 15 de junho de 2022.
- Potgieter N., Karambwe S., Mudau L. S., Barnard T., Traore A. (2020). Human Enteric Pathogens in Eight Rivers Used as Rural Household Drinking Water Sources in the Northern Region of South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (6) 2079. doi: 10.3390/ijerph17062079.
- Prado T., Silva D. M., Guilayn W. C., Rose T. L., Gaspar A. M. C., Miagostovich M. P. (2011). Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. *Water Research* 45 (3) 1287-1297. doi: 10.1016/j.watres.2010.10.012.
- Prado T., Fumina T. M., Miagostovich M. P., Gaspar A. M. C. (2012). Monitoring Hepatitis A Virus in Urban Wastewater from Rio de Janeiro, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 106 (X) 104-109. doi: 10.1016/j.trstmh.2011.10.005.
- Rames E., Roiko A., Stratton H., Macdonald J. (2016). Technical aspects of using human adenovirus as a viral water quality indicator. *Water Research* 96 308-326. doi: 10.1016/j.watres.2016.03.042
- Rigotto C., Victoria M., Moresco V., Kolesnikovas C. K., Corrêa A. A., Souza D. S. M., Miagostovich M. P., Simões C. M. O., Barardia C. R. M. (2010). Assessment of adenovirus, hepatitis A virus

- and rotavirus presence in environmental samples in Florianopolis, South Brazil. *Journal of Applied Microbiology* 109 1979-1987. doi: 10.1111/j.1365-2672.2010.04827.x.
- Rollemberg S. L. S., Barros A. N., Lima J. P. M. (2020). Avaliação da contaminação, sobrevivência e remoção do coronavírus em sistemas de tratamento de esgoto sanitário. *Rev. Tecnol. Fortaleza* 41 (1) 1-15. Doi: 10.5020/23180730.2020.10849.
- Rusin P., Enriquez C. E., Johnson D., Gerba C. P. (2000). Environmentally transmitted pathogens. In : Maier RM, Pepper IL, Gerba CP (Ed.). *Environmental microbiology*. Academic Press: San Diego. p. 447-85.
- Salvador D., Caeiro M. F., Serejo F., Nogueira P., Carneiro R. N., Neto C. (2020). Monitoring Waterborne Pathogens in Surface and Drinking Waters. Are Water Treatment Plants (WTPs) Simultaneously Efficient in the Elimination of Enteric Viruses and Fecal Indicator Bacteria (FIB)? *Water* 12 (10) 2824. doi.org/10.3390/w12102824.
- Subekti D., Lesmana M., Tjaniadi P., Safari N., Frazier E., Simanjuntak C., Komalarini S., Taslim J., Campbell J. R., Oyofa B. A. (2002). Incidence of Norwalk-like viruses, rotavirus and adenovirus infection in patients with acute gastroenteritis in Jakarta, Indonesia. *FEMS. Immunology and Medical Microbiology* 33 27-33. doi: 10.1111/j.1574-695X.2002.tb00568.x.
- Symonds E. M., Verbyla M. E., Lukasik J. O., Kafle R. C., Breitbart M., Mihelcic J. R. (2014). A case study of enteric virus removal and insights into the associated risk of water reuse for two wastewater treatment pond systems in Bolivia. *Water Research* 65 257-270. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.032>.
- Toze S. (1999). PCR and the detection of microbial pathogens in water and wastewater. *Water Research* 33 (17). doi: 10.1016/S0043-1354(99)00071-8.
- Tsai Y. L., Sobsey M. D., Sangermano L. R., Palmer C. J. (1993). Simple method of concentrating enteroviruses and hepatitis A virus from sewage and ocean water for rapid detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology* 59 (10) 3488-3491.
- Upfold N. S., Luke G. A., Knox C. (2021). Occurrence of Human Enteric Viruses in Water Sources and Shellfish: A Focus on Africa. *Food Environmental Virology* 13 (1) 1-31. doi: 10.1007/s12560-020-09456-8.
- USEPA (2021). *Contaminant Candidate List (CCL) and Regulatory Determination*. Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. <https://www.epa.gov/ccl/contaminant-candidate-list-5-ccl-5>, acessado em 6 de Abril de 2022.
- Vecchia A. D., Fleck J. D., Kluge M., Comerlato J., Bergamaschi B., Luz R. B., Arantes T. S., Silva J. V. S., Thewes M. R., Spilki F. R. (2012). Assessment of enteric viruses in a sewage treatment plant located in Porto Alegre, southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 72 (4) 839-846. Doi: 10.1590/S1519-69842012000500009.
- Vecchia A. D., Fleck J. D., Comerlato J., Kluge M., Bergamaschi B., Da Silva J. V. S., Da Luz R. B., Teixeira T. F., Garbinatto G. N., Oliveira D. V., Zanin J. G., Van der Sand S., Frazzon A. P. G., Franco A. C., Roeche P. M., Spilki F. R. (2012). First description of Adenovirus, Enterovirus, Rotavirus and Torque teno virus in water samples collected from the Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 72 (2) 323-329. doi: 10.1590/S1519-69842012000200013.
- Von Sperling M. (2011). *Princípios Básicos do Tratamento de Esgotos*. 2ª Edição. Belo Horizonte, Editora UFMG. ISBN: 9788542301748.
- Wobus C. E., Svoboda, S. A. (2018) Enteric Viruses. *Encyclopedia of Microbiology* (Fourth Edition). Academic Press 156-162. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.90171-7.
- Wolf S., Hewitt J., Greening G. E. (2010). Viral multiplex quantitative PCR assays for tracking sources of fecal contamination. *Applied and environmental microbiology* 76 (5) 1388-1394. doi: 10.1128/AEM.02249-09.
- Wyn-Jones A. P., Sellwood J. (2001). Enteric viruses in the aquatic environment. *Applied and environmental microbiology*. 91: 945-962. Doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01470.x.