



OTÁVIO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

Vigilância epidemiológica baseada em águas residuárias para o SARS-CoV-2: avaliação de uma ETE e “Hotspots” de Lavras-MG

**LAVRAS – MG
2023**

OTÁVIO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**Vigilância epidemiológica baseada em águas residuárias para o SARS-CoV-2: avaliação
de uma ETE e “Hotspots” de Lavras-MG**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Luciene Alves Batista Siniscalchi
Orientadora

Mestrando Rodolfo Appoloni Crippa
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

OTÁVIO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**Vigilância epidemiológica baseada em águas residuárias para o SARS-CoV-2: avaliação
de uma ETE e “Hotspots” de Lavras-MG**

Monografia apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso de
Engenharia Ambiental e Sanitária, para a obtenção
do título de Bacharel.

APROVADO 28 de junho de 2023.

Prof. Dr. Luciene Alves Batista Siniscalchi DAM-UFLA

Mestrando Rodolfo Appoloni Crippa DAM-UFLA

Doutoranda Mariana Aparecida de Freitas Abreu DCF-UFLA

Doutorando Juliano Curi de Siqueira EESC-USP

Prof. Dr. Luciene Alves Batista Siniscalchi
Orientadora

Mestrando Rodolfo Appoloni Crippa
Coorientador

**LAVRAS – MG
2023**

AGRADECIMENTOS

Em especial ao meu pai, Sr. Aldair, por ter sonhado comigo e propiciado todas as condições para que hoje eu pudesse estar realizando este grande sonho. Sem ele essa jornada seria impossível. Palavras me faltam para dizer o quanto sou grato por ter você em minha vida. A minha mãe, Simone, mesmo que distante sempre preocupada com as minhas decisões. E, imensamente as minhas tias, Ireni e Marta, cada uma delas sabe a importância que teve em minha trajetória para que este momento chegasse. Agradeço também, imensamente, a minha tia, Nilza, que nos momentos mais difíceis à esta trajetória esteve me dando força sem até mesmo eu dizer, por me dar apoio e sobretudo, confiar e seguir meus sonhos com fé.

À minha orientadora, Luciene, que no momento mais difícil fizesse com que eu não desistisse de tudo, e por ter confiado em mim.

À Universidade Federal de Lavras por proporcionar um ensino público de qualidade, e aos professores que contribuíram para minha formação.

Aos meus amigos de laboratório, Jainy, Rafaela, Rodolfo e Juliano, que me ensinaram e contribuíram para que esse trabalho pudesse ser realizado.

Aos meus amigos, Alysson, Natália, Deyller, Guilherme, Dáfilla, por serem fonte de inspiração e forças a cada momento. E minha namorada, Gabriela, que esteve ao meu lado quando mais precisei.

Agradecer ao financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pelo apoio ao projeto por meio do financiamento TEQ APQ 03060/21. E ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC.

RESUMO

O esgoto sanitário pode ser uma importante ferramenta para entender a dinâmica de comunidades. Nesse sentido, o emprego da epidemiologia baseada em esgoto tem potencial como ferramenta precoce para detectar a presença de COVID-19 em uma comunidade, ajudar frente a tomada de decisões e enfrentamento de surtos junto à saúde pública, visto que são excretadas partículas virais de SARS-CoV-2 em águas residuárias de indivíduos sintomáticos e assintomáticos. Diante desse contexto, o presente estudo objetivou a detectar a presença do SARS-CoV-2 em águas residuárias em uma estação de tratamento de esgoto (ETE) da cidade de Lavras-MG - ETE Ribeirão Vermelho - e de quatro "hotspots" do município, sendo esses: região central, escola, casa de repouso e ETE-UFLA. Ademais, a presente proposta visou avaliar a relação entre detecção viral com variáveis físicas e químicas do esgoto coletado e os números de casos de COVID-19. Assim, para determinar as variáveis físicas e químicas das amostras de esgoto, foram feitas análises de potencial hidrogeniônico (pH), sólidos suspensos totais (SST) e demanda química de oxigênio (DQO). Com relação às análises moleculares, realizou-se em uma única etapa a transcrição reversa seguida pela reação em cadeia da polimerase (RT-qPCR) para região N do vírus SARS-CoV-2. O número de novos casos de COVID-19 foi obtido por meio de boletins epidemiológicos disponibilizados pela Prefeitura Municipal de Lavras. Para as ETEs avaliadas, o fator limitante ligado à detecção do SARS-CoV-2 foi a variável DQO, com ênfase no fator externo (novos casos) para a ETE-UFLA. Para o colégio, o conjunto de dados físicos e químicos juntamente com o fator externo influenciaram a detecção. Para a região central, pH e SST juntamente com o fator externo também influenciaram a detecção. E para a casa de repouso, a variável limitante foi o pH. Houve um aumento de novos casos no município na semana que se pôde detectar a presença do material genético em quase todos os pontos. No entanto, apenas na ETE Ribeirão Vermelho que tal fator externo não foi condizente. Portanto, é imprescindível que novos estudos sejam feitos para correlacionar as variáveis físicas e químicas do esgoto com a presença do material genético do SARS-CoV-2.

Palavras-chave: COVID-19. Águas residuárias. RT-qPCR; WBE. Vigilância epidemiológica baseada em esgoto. Coronavírus

ABSTRACT

Sanitary sewage can be an important tool to understand the dynamics of communities. In this sense, the use of wastewater-based epidemiology has potential as an early tool to detect the presence of COVID-19 in a community, help in decision-making and coping with public health outbreaks, since SARS viral particles are excreted -CoV-2 in wastewater from symptomatic and asymptomatic individuals. Given this context, the present study aimed to detect the presence of SARS-CoV-2 in wastewater at a sewage treatment plant (ETE) in the city of Lavras-MG - ETE Ribeirão Vermelho - and four "hotspots" in the municipality, these being: central region, school, nursing home and ETE-UFLA. In addition, the present proposal aimed to evaluate the relationship between viral detection with physical and chemical variables of collected sewage and the number of cases of COVID-19. Thus, in order to determine the physical and chemical variables of the sewage samples, analyzes of hydrogen ion potential (pH), total suspended solids (TSS) and chemical oxygen demand (COD) were carried out. With regard to molecular analyses, reverse transcription followed by polymerase chain reaction (RT-qPCR) for the N region of the SARS-CoV-2 virus was carried out in a single step. The number of new cases of COVID-19 was obtained through epidemiological bulletins released by the City Hall of Lavras. For the ETEs evaluations, the limiting factor linked to the detection of SARS-CoV-2 was the COD variable, with emphasis on the external factor (new cases) for the ETE-UFLA. For the college, the set of physical and chemical data together with the external factor influenced the detection. For the central region, pH and SST together with the external factor also influenced the detection. And for the nursing home, a limiting variable was the pH. There was an increase in new cases in the municipality in the week that the presence of genetic material could be detected in almost all points. However, it was only at ETE Ribeirão Vermelho that such an external factor was not consistent. Therefore, it is necessary that new studies be carried out to correlate the physical and chemical variables of the sewage with the presence of the genetic material of SARS-CoV-2.

Keywords: COVID-19. Wastewater. RT-qPCR; WBE. Wastewater-based epidemiological surveillance. Coronavírus.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS	6
3. REFERENCIAL TEÓRICO	7
3.1. Saneamento no Brasil: saneamento x saúde	7
3.2. John Snow: da cólera a epidemiologia de esgoto	9
3.3. A utilização da epidemiologia baseada em águas residuárias	10
3.4. Sars-CoVs	12
3.5. Sars-CoV-2: caracterização biológica	15
3.6. Sars-CoV-2: em águas residuárias	21
3.7. Sars-CoV-2: em diferentes tipos de tratamento	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

O monitoramento epidemiológico do esgoto (do inglês “*Wastewater-Based Epidemiology*” (WBE)) é uma importante ferramenta de saúde pública que tem sido empregada a fim de avaliar a circulação de patógenos em uma população. No final da década de 1930, pesquisadores identificaram que o vírus da Poliomielite circulava nos esgotos de cidades que apresentavam surtos (MARQUES *et al.*, 1993; YANO, 1993). Desde então, a vigilância das águas residuárias ganhou relevância na campanha de erradicação do poliovírus. Doenças que são subnotificadas e/ou de difícil diagnóstico por sistemas de vigilância tradicionais e que levam ao agravamento de saúde na população devem ser priorizadas em programas de monitoramento de esgoto voltados à saúde coletiva (DIAMANTE *et al.*, 2022). A presença de agentes patogênicos (vírus, protozoários, bactérias, entre outros) em águas residuárias podem indicar a presença de um agente causador de uma infecção, desta forma pesquisas em águas residuárias podem contribuir com autoridades locais de saúde pública. A confirmação da presença de um agente infeccioso em uma amostra poderá contribuir para tomadas de decisões de autoridades locais como, por exemplo, na escolha de medidas orientativas dos próximos cenários de circulação de uma determinada doença infecciosa em uma população amostrada.

Informações qualitativas e quantitativas sobre a comunidade e a circulação de patógenos são essenciais para a estruturação de um programa de monitoramento epidemiológico. Contudo, dados sobre resistência a antibióticos e exposição a contaminantes ambientais, como pesticidas e outros compostos químicos (drogas ilícitas e terapêuticas, cafeína, nicotina e álcool), apresentam-se igualmente relevantes (SUCHOMSKA *et al.* 2020; DIAMANTE *et al.*, 2022).

A atual pandemia de COVID-19, oriunda da província de Hubei, na China, e iniciada em dezembro de 2019, foi declarada como emergência de saúde pública internacional em janeiro de 2020 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Estudos detectaram a presença de partículas de RNA viral do SARS-CoV-2 em pacientes diagnosticados com COVID-19 em amostras de urina, fezes e águas residuárias. Uma vez reportada a evidência de fragmentos virais no esgoto, torna-se importante a investigação epidemiológica a fim de estruturar ações e antecipar novos surtos (AHMED *et al.*, 2022; FOLADORI *et al.*, 2022; KARTHIKEYAN *et al.*, 2022; KUMBLATHAN *et al.*, 2023; ATOUI *et al.*, 2023).

No Brasil, vários estudos foram realizados, a exemplo, em Santa Catarina (FONGARO *et al.*, 2021), Minas Gerais (MOTA *et al.*, 2021; ABREU *et al.*, 2022), Rio de Janeiro (PRADO *et al.*, 2021) e em diferentes regiões do país. Nesse sentido, foi criada uma rede de cooperação entre a Agência Nacional das Águas (ANA), o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, o Ministério da Saúde e algumas capitais, como Belo Horizonte, Curitiba, Rio de Janeiro, Distrito Federal e Fortaleza, cujo objetivo é alimentar o programa de monitoramento baseado em esgoto para o SARS-CoV-2 no país. A região do ABC paulista e as cidades de Foz de Iguaçu e Goiânia também foram contempladas por esta iniciativa; contudo, municípios de pequeno e médio porte continuam sem receber a devida atenção quanto ao monitoramento epidemiológico necessário (DE FREITAS BUENO *et al.*, 2022).

Assim sendo, a presente proposta de trabalho tem como objetivo detectar a presença do vírus em uma ETE municipal e “Hotspots” do município de Lavras-MG.

2 OBJETIVOS

Geral

Detectar a presença do SARS-CoV-2 em águas residuárias da ETE Ribeirão Vermelho e “Hotspots” do município de Lavras – MG.

Específicos

- Apresentar a importância dos estudos em WBE para a Engenharia Ambiental e Sanitária;
- Investigar o número de indivíduos infectados pela COVID-19 relatados por meios de boletins municipais e sua relação com a presença do material genético do SARS-CoV-2;
- Analisar variáveis físicas e químicas de águas residuárias e a sua relação com a detecção do SARS-CoV-2.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Relação entre saneamento e saúde pública no Brasil

O saneamento básico refere-se ao conjunto de infraestruturas e medidas necessárias a promover a saúde pública, a preservação do meio ambiente e, sobretudo, a qualidade de vida da população por meio do acesso adequado a serviços de abastecimento de água, esgoto e resíduos sólidos (HELLER, 1998; PASINI; DAMKE, 2020). As exposições ambientais que, de alguma forma, colocam a vida dos seres humanos em risco, como condições de moradia, água e saneamento inadequadas, está intimamente ligada à saúde pública (NEIRA; PRÜSS-USTÜN, 2016; MASSA; CHIAVEGATTO FILHO, 2020), gerando assim, preocupações em países em desenvolvimento de baixa e média renda. Caracterizado pelo aumento de moradias em locais sem infraestrutura, o crescimento urbano desordenado é um grande aliado em regiões com menor desenvolvimento e que geralmente possuem políticas públicas ineficientes, pois pode acarretar a possibilidade de criação de um ciclo potencialmente propício para a circulação de patógenos de veiculação hídrica, condição esta que afeta diretamente a saúde humana.

Desde o início da estruturação de saneamento básico no Brasil, diferentes etapas foram marcadas na história. Em sua primeira fase, em meados do século XIX, havia a prevenção da saúde juntamente à qualidade da água e esgotamento, onde o Estado assumiu responsabilidades sobre os serviços essenciais de saneamento nas principais cidades do país, transferindo todos os serviços a prestadores ingleses, em que o papel do Estado era de apenas abrir concessões, culminando, assim, a exclusão de grande parte da população que não tinha condições para pagar o acesso naquele período (DE PAIVA BRITTO *et al.*, 2012). Mais tarde, no decorrer dos anos 40, em decorrência da baixa qualidade dos serviços prestados pelas empresas estrangeiras, iniciou-se às autarquias e financiamentos sobre a comercialização dos serviços hídricos para o abastecimento de água e avanços em sistemas sanitários pelo Serviço Especial de Saúde Pública (SESP), que em 1991 através da fusão com a Fundação Serviços de Saúde Pública (FSESP) possibilitou a criação da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) (HELLER *et al.*, 2018), responsável pelas ações ligadas diretamente ao saneamento e ao controle de doenças focadas em comunidades carentes, rurais e grupos específicos.

Entretanto, apenas em 1971, foi criado o Plano Nacional de Saneamento (PLANASA), com o objetivo de construir um sistema que abrangesse os serviços de saneamento, com abastecimento de água e esgotamento sanitário mediante diretrizes, medidas, implementação e infraestrutura em território nacional (HELLER, 1998). Posteriormente, em 2007, após anos sem apoio de políticas públicas regulamentadas, mas com o início de estudos de suporte ao desenvolvimento e elaboração de uma política de saneamento financiada pelo Banco Mundial, houve então o sancionamento da Lei Federal nº 11.445, denominada Política Nacional do Saneamento Básico (PNSB), tendo como pilar à saúde pública, desenvolvimento regional e urbano, a proteção ao meio ambiente, à segurança e o combate à pobreza (BRASIL, 2007).

Após os desdobramentos do PNSB, foi criado, em 2020, o novo Marco Legal do Saneamento Básico. Instituído pela Lei nº 14.026, este instrumento legal tem como premissa o aprimoramento das condições estruturais do saneamento básico e a destinação correta e responsável de resíduos sólidos. Dentre suas metas para 2033, e com possibilidade de ampliação até o ano de 2040, estão 99% de atendimento ao acesso à água potável e 90% de coleta e tratamento de esgoto em território nacional (BRASIL, 2020). Além disso, o Novo Marco Legal do Saneamento Básico instituiu a Agência Nacional de Águas (ANA) como órgão regulamentador, facilitando o gerenciamento e visando a universalização dos serviços de saneamento básico no Brasil (ANA, 2020).

O saneamento básico tem papel fundamental no controle da disseminação e na transmissão de doenças (PRADO; MIAGOSTOVICH, 2014; MIAGOSTOVICH *et al.*, 2020). Contudo, regiões mais pobres carecem de atenção uma vez que, o aumento da disseminação de doenças transmissíveis também tem relação direta com a desigualdade socioeconômica, em virtude da ausência de serviços básicos de saneamento, afetando amplamente tais comunidades (ANSER *et al.*, 2020; AMEGBOR; ADDAE, 2023). Em um estudo realizado por Silva *et al.* (2023), atestou-se que, quanto maior o acesso aos serviços de saneamento, menores são as taxas de incidência de COVID-19 na população, mostrando também, que as regiões Norte e Nordeste do Brasil apresentaram maior incidência à COVID-19 devido ao baixo alcance dos serviços de saneamento, corroborando com os dados do SNIS quanto a cobertura de rede coletora de esgoto dessas regiões.

Segundo o Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (SNIS), no ano de 2020, o atendimento dos serviços de esgotamento foi de 55,0%, número que representou aumento de 0,9% em relação ao índice calculado no ano de 2019 referente ao atendimento nacional de esgotamento. É válido salientar que tal índice diz respeito apenas à presença da rede coletora de esgoto, independentemente da existência de tratamento. Por outro lado, quanto ao índice de atendimento urbano de esgoto, verificou-se índice de 63,2%, cujo aumento foi de 1,3% em relação ao ano de 2019 (BRASIL, 2022). Em relação ao tratamento do esgoto gerado, apenas cerca de 50,8% recebiam tratamento, enquanto 79,8% do esgoto coletado também era tratado. No que tange às macrorregiões do país, Centro-Oeste, Sul, Norte, Sudeste e Nordeste tratavam o esgoto coletado em 94,3%, 93,9%, 85,8%, 76,4% e 76,0%, respectivamente. Estes índices devem ser cuidadosamente interpretados, pois, as regiões Centro-Oeste, Sul, Norte, Sudeste e Nordeste, apresentavam 59,5%, 47,4%, 13,1%, 80,5% e 30,3%, respectivamente, da população total atendida com rede pública de esgoto (BRASIL, 2022), inferindo-se que a baixa cobertura da rede de coleta nas regiões norte e nordeste pode não prover uma boa representatividade dos índices de coleta naquelas regiões.

Mesmo sendo uma doença respiratória, muitos são os fatores que propiciam e aceleram a propagação do SARS-CoV-2 na população, as quais estão diretamente ligados aos cuidados básicos de saneamento, como: lavar as mãos frequentemente com sabão, cuidados especiais com resíduos sólidos, higienizar objetos e manter os ambientes limpos, dentre outras medidas individuais e coletivas. Assim, uma vez reportado na literatura a presença de carga viral de SARS-CoV-2 em águas residuárias (ATOUI *et al.*, 2023; AHMED *et al.*, 2022; FOLADORI *et al.*, 2022; KARTHIKEYAN *et al.*, 2022; KUMBLATHAN *et al.*, 2023; MOURA; BUCKLEY; WILCOX, 2022; MONTEIRO *et al.*, 2022; TORABI *et al.*, 2023), demonstra-se a preocupação em relação à possível rota de transmissão fecal-oral por contato direto com águas residuárias contaminadas.

3.2. John Snow: da cólera à epidemiologia baseada em esgoto

O trabalho de John Snow, no que tange ao descobrimento da cólera, evidencia o início das investigações e estudos para teoria e prática epidemiológica em meados do século XIX (1854) na Grã-Bretanha, na área da “*Broad Street*”, Golden Square, no

Soho, um bairro pobre de Londres. John Snow suspeitava que o agente da cólera era um agente minúsculo, tão pequeno que era impossível enxergar a olho nu, com capacidade de se reproduzir e provavelmente formado por uma célula (SNOW, 1855^a).

Perante a isso, o então médico se concentrou em estabelecer as formas pelas quais a doença era transmitida de pessoa para pessoa. Naquele tempo, a teoria que predominava, era que a transmissão poderia ser feita por inalação da atmosfera devido à falta de saneamento onde eram lançadas de forma irregular o esgoto – miasmas, o que deixava mau cheiro pelos bairros de Londres. Porém, o cientista se debruçou na conceituação que a transmissão poderia ser apenas devido à água contaminada, sendo esta a hipótese mais plausível que circulava entre os médicos, devido a inspiração da Teoria dos Germes sobre a qual já abordava em sua monografia, datada de 1849 (SNOW, 1856).

Snow investigou e rastreou cerca de, aproximadamente, 600 mortes ocorridas em um período de 10 dias na área da *Broad Street* e ruas adjacentes. Neste local, os moradores usavam a bomba da *Broad Street* como fonte de captação de água para consumo. Ele também observou que as pessoas que deixavam suas residências mediante a tantas mortes ocorridas no local não se infectaram, apenas aqueles que tinham o hábito de beber água daquela fonte eram acometidos pela tragédia. Após a retirada da alça da bomba d'água, houve uma diminuição nos casos e em seguida desapareceram por completo (SNOW, 1855^a), o que acabou transformando sua hipótese científica em teoria, revolucionando a epidemiologia.

Este caso investigado por Snow contribuiu para consolidar que a teoria de que a cólera era transmitida pela contaminação pela água. Assim, Snow foi o pioneiro no estabelecimento da metodologia básica da saúde pública moderna para investigação de relação causal entre microrganismos e doenças, confirmando a Teoria dos Germes. Segundo tal teoria, por meio da análise geográfica espacial com uso de cartografias, permitiu-se verificar os casos acometidos em torno da fonte da epidemia, a bomba d'água usada pelos moradores.

3.3. A utilização da epidemiologia baseada em águas residuárias

Em uma linha histórica, o surto de cólera em Londres, em 1854, evidenciada pelo médico John Snow, trouxe elucidações que transformaram a ciência moderna, mostrando a ligação direta entre a epidemiologia e o esgoto, sendo, portanto, o

primeiro caso documentado cientificamente com informações epidemiológicas acerca de uma população (BARCELLOS et al., 2023). Os primeiros trabalhos de vigilância epidemiológica de águas residuárias foi descrita em 1993, com foco na detecção do vírus da poliomielite (YANO, 1993; MARQUES et al., 1993). A partir de então, tornou-se recorrente o uso dessa ferramenta para investigações e vigilância de poliomielite em esgoto até o ano de 2010 (MANOR et al., 1999, DEDEPSIDIS et al., 2007). Além disso, outros microrganismos foram investigados como, a exemplo, *Vibrio cholera* e vírus entéricos (BLINKOVA et al., 2009).

Em 2009, o termo “Wasterwater-Based Epidemiology” (WBE), apareceu em decorrência das pesquisas voltadas a entender, principalmente, concentrações de medicamentos em esgotos associados ao uso da população (DAUGHTON, 2020), e de substâncias ilícitas em comunidades e sua dinâmica, com esforços concentrados principalmente em países europeus (VAN NUIJS et al., 2009; ZUCCATO et al., 2005; LAI et al., 2015), abrindo os horizontes da epidemiologia baseada em esgoto não apenas no campo da biologia, mas em campos multidisciplinares como a química (BARCELLOS et al., 2023). Em países em desenvolvimento onde a vigilância epidemiológica carece de informações, esta ferramenta se concretiza com uma estratégia eficiente e viável para compreender a circulação de doenças, visando a gestão da saúde pública (FONGARO et al., 2022). Porém, deve-se refletir quanto a regiões com baixo saneamento básico, tornando-se um impasse para uso de tal ferramenta, por exemplo, quando nestas localidades deficientes há inexistência de rede coletora de esgoto, sendo os lançamentos irregulares uma realidade e que podem apresentar diluição em virtude das águas pluviais, dificultando uma análise representativa dos dados populacionais, e até mesmo, representatividade do esgoto (BARCELLOS et al., 2023).

No entanto, devido à crise humanitária ocasionada pelo SARS-CoV-2, houve maior visibilidade dessa abordagem em estudos comunitários e populacionais. A WBE, durante a pandemia de COVID-19, tornou-se uma abordagem fundamental para entender como a circulação do vírus SARS-CoV-2 e tendências de circulação viral em nível comunitário em tempo real, corroborando para informações complementares à vigilância clínica (MASACHESSI et al., 2022; FONGARO et al., 2022; MOUSAZADEH et al., 2021), o que facilitaria a identificação rápida de hotspots, uma vez que as estações de tratamento de esgoto sejam representativas por determinada comunidade ou região, produzindo mapas de padrões de aglomerados e regiões onde

ainda não se teve o excreção viral, alto número de infecções ativas não identificadas ou número de infecções estejam aumentando acima do limite pré-determinados, chegando a medidas de intervenção propícias para diminuição de casos emergentes, sendo um método barato e menos invasivo do que testes maciços de indivíduos (DAUGHTON, 2020^a; NABI; SIDDIQUE; KHAN, et al., 2020; THOMPSON et al., 2020; ISLAM et al., 2023).

3.4. SARS-CoVs

Atualmente, a classificação formal para definir os grupos de vírus se dá sobre a variedade de hospedeiros, ciclo de replicação, semelhanças nas estruturas e as propriedades das partículas virais e do genoma; por conter grandes divergências em sequência genômica, morfologia e em suas variedades de hospedeiros, fazem com que sejamos impedidos de identificá-los acima dos níveis de família, ou seja, reconstruindo sua história evolutiva (PETERSON, 2014; SIMMONDS, 2015).

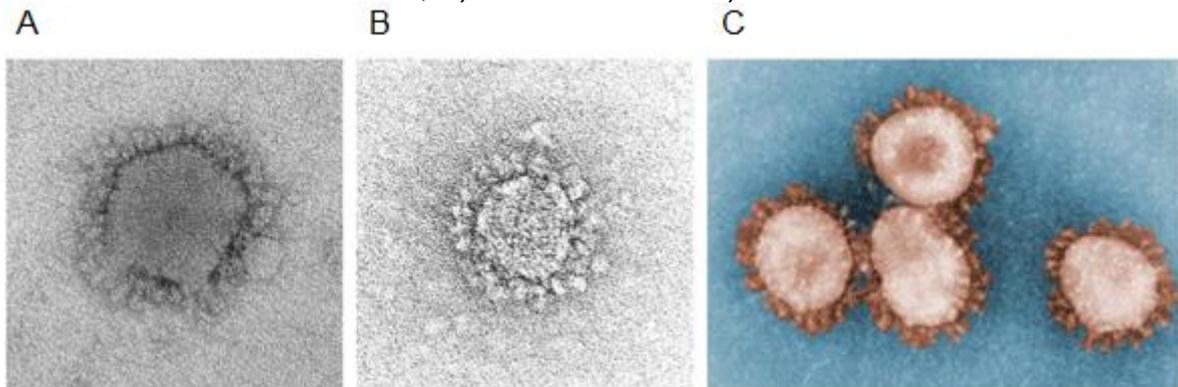
Ao se classificar vírus que contém RNA, é necessário considerar sua variabilidade genética intrínseca, o que em geral, resulta em dois ou variados vírus de características genômicas semelhantes, mas não idênticas, colocando em evidência a quantidade de diferenças genômicas que um grupo tem em relação ao novo vírus, ou seja, às novas cepas ou variantes, por análises genéticas e filogenéticas (GORBALENYA et al., 2020; SIMMONDS et al., 2017). A partir destas mutações, pode ser desenvolvida uma nova nomenclatura taxonômica sob supervisão do “*International Committee on Taxonomy of Viruses*” (ICTV) e da Organização Mundial de Saúde (OMS), esta última responsável por nomear doenças causadas por vírus emergentes, onde, geralmente, vincula-se a doença causada em específico a seres humanos ao novo vírus.

O sequenciamento genótipo é o meio mais conhecido para identificar vírus específicos que circulam na natureza e que contém estrutura genômica capaz de replicar de forma autônoma dentro das células dos hospedeiros, além de disseminar outras células ou organismos em condições apropriadas, podendo ser prejudicial ou não a seu hospedeiro natural (AIEWSAKUN; SIMMONDS, 2018; GORBALENYA et al., 2020). Para identificar os vírus causadores de infecções em humanos existem métodos, padrões e procedimentos estabelecidos internacionalmente, e em casos de

surtos recém-emergidos são aplicados procedimentos apropriados e refinados de modo a identificá-los (KING *et al.*, 2012).

O termo “*coronavírus*” (CoVs), surgiu na década de 1960 com o aparecimento de vírions CoV (LAI; CAVANAGH, 1997; SU *et al.*, 2016), partículas virais que se encontraram fora de uma célula hospedeira, quando observados sob microscopia eletrônica, na qual as projeções de picos da membrana do vírus aparentavam ter uma coroa, em latim, “*corona*” (LAI; CAVANAGH, 1997; FIELDS, 2007). Na atualidade, cerca de seis cepas de CoVs são conhecidas por infectar humanos, as quais incluem: HcoV-229E (229E), HcoV-OC43 (OC43), *coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV)*, HcoV-NL63 (NL63), HcoV-HKU1 (HKU1) e *coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV)* (VAN DER HOEK *et al.*, 2004; KIN, 2015; WOO *et al.*, 2005).

Figura 1 – Visualização de *coronavírus* com uso de microscopia eletrônica. Foto A) Mers-CoV, B) SARS-CoV-2 e C) HcoV-229E



Legenda: Foto A e B Dr. Cynthia Goldsmith e Dr. Azaibi Tamin, foto C para Dr. Fred Murphy. Biblioteca de Imagens de Saúde Pública (PHIL) dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), números de identificação 15908 (<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=15908>), 23640 (<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=23640>) e 15523 (<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=15523>), respectivamente.

Fonte: Adaptado de GIACOBBO *et al.* (2021).

Descobertos em 1966 e 1967, respectivamente, HcoV-229E e HcoV-OC43 são *coronavírus* humanos que circulam amplamente há tempos entre a população humana, sendo associados a casos de resfriados comuns (V'KOVSKI *et al.*, 2021) cujos sintomas são mal-estar, dor de cabeça, secreção nasal, espirros e dor de garganta (TYRRELL; COHEN; SCHILARB, 1993). Quatro décadas após, houve o surgimento de outro agente etiológico causador de doenças respiratórias em humanos, o SARS-CoV, conhecido pelo surto de 2002 a 2003, que afetou cerca de

8.000 indivíduos com uma taxa de letalidade de, aproximadamente, 10% na província de Guangdong, na China (CHENG *et al.*, 2007; DROSTEN *et al.*; CHAN-YEUNG; XU, 2003). Sua origem está vinculada à caça selvagem de civetas (*Paguma larvata*), espécie nativa do sul e sudeste da Ásia, que por sua vez teriam adquirido o vírus de morcegos rinolofídeos (YANG *et al.*, 2016). Já em 2012, na Arábia Saudita, um caso fatal de pneumonia em humano originou a descoberta da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), decorrente da transmissão zoonótica intermediária entre camelos dromedários (ZAKI *et al.*, 2012), no qual, mais de 2.000 casos foram relatados compreendendo uma taxa de casos fatais próxima a 35% (WHO, 2017). E por fim, o novo coronavírus, SARS-CoV-2, que será apresentado posteriormente.

Os coronavírus são membros da subfamília *Coronavirinae* da família *Coronaviridae* e da ordem *Nidovirales* (ICTV). A família *Coronaviridae* são uma ampla família de vírus que contém RNA de fita simples de cadeia positiva, envelopados e que infectam vertebrados, causando doenças respiratórias ou entéricas (V'KOVSKI *et al.*, 2021; CORMAN *et al.*, 2018; MASTERS, 2006; DROSTEN *et al.*, 2003; CUI; LI; SHI, 2019), podendo chegar em alguns casos em agravamento de doenças neurológicas e hepáticas (LAI, 2001; WEISS; LEIBOWITZ, 2011), sendo o maior genoma conhecido para vírus de RNA (WEISS; NAVAS-MARTIN, 2005). Além disso, os vírus que contém RNA sofrem mutações mais rapidamente quando comparados a vírus de DNA, como também as características de nucleotídeos de fita simples (SANJUÁN; DOMINGO-CALAP, 2016).

Esta subfamília é classificada em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* – sendo esta divisão com base em suas relações filogenéticas e estruturas genômicas (CUI; LI; SHI, 2019). Os *gamacoronavírus* e *deltacoronavírus* infectam principalmente aves e alguns deles podendo infectar mamíferos (WOO *et al.*, 2012). Os *alfacoronavírus* e *betacoronavírus*, em geral, causam doenças gastroentéricas em animais e respiratórias em humanos, como é o caso dos vírus altamente patológicos do SARS-CoV e MERS-CoV (FORNI *et al.*, 2017). Atualmente, cerca de 7 das 11 espécies de *Alphacoronavirus* e 4 das 9 espécies de *Betacoronavirus*, conferido pelo ICTV, foram identificadas apenas em morcegos, fato que apoia a hipótese de que a cadeia de transmissão desta subfamília partiu do morcego e alcançou o ser humano, assim, considerados a fonte evolutiva dos gêneros de *alpha* e *betacoronavírus* (BENVENUTO *et al.*, 2020; LATINNE *et al.*, 2020; WOO *et al.*, 2012).

De acordo com o ICTV, as cepas encontradas em morcegos do gênero *Rhinolophus*, localizados em países europeus, sudeste asiático e na China, são variantes do SARS-CoV; enquanto os morcegos do gênero *Hipposideros* localizados na África estão menos relacionados à incidência do SARS-CoV, devendo ser classificados como uma nova espécie de coronavírus (TONG *et al.*, 2009). Devido à alta densidade populacional, ampla distribuição geográfica, por serem hospedeiros naturais de CoVs e capazes de voar por longas distâncias, os morcegos se tornam vetores potenciais, sendo capazes de abrigar e espalhar com facilidade vários agentes infecciosos (TONG, *et al.*, 2009).

Em vista da grande diversidade genética dos SARS-CoVs em morcegos, a coexistência e a frequente recombinação dos coronavírus, há de se esperar que novas variantes surjam futuramente (NAGY; SIMON, 1997). Recentes estudos sobre evolução genética, patogênese e ligação ao receptor demonstram que o SARS-CoV se originou provavelmente por meio da recombinação sequencial de SARS-CoVs de morcego, sofrendo mutações rápidas na proteína S e ORF8 (CUI; LI; SHI, 2019).

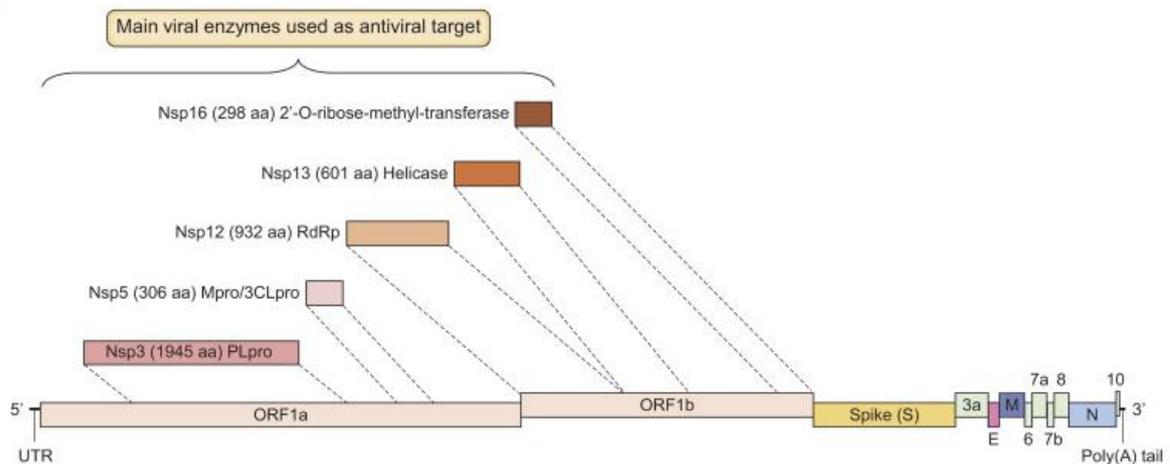
3.5. SARS-CoV-2: caracterização biológica

Em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, província de Hubei na China, houve um aumento significativo de casos de pneumonia no qual o agente infeccioso não havia sido identificado. O surto começou em um mercado local de frutos do mar (WMHC, 2019) e posteriormente foi identificado o vírus CoV (SARS-CoV-2) (TAN *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020), o que resultou em, aproximadamente, cerca de 6,9 milhões de mortes pelo mundo até meados de 2023 (WHO, 2023), tornando uma pandemia global. Em análises filogenéticas pode-se revelar que o SARS-CoV-2 é um novo *betacoronavírus* pertencentes ao subgênero *Sarbecovírus*, distintos tanto do SARS-CoV quanto do MERS-CoV (LU *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020). O SARS-CoV-2 é provavelmente derivado de um clado de vírus de origem de morcegos-ferradura, sendo os vírus mais próximos do SARS-CoV-2 encontrados em espécies *Rhinolophus affinis* (cepa RaTG13), *Rhinolophus malayanus* (cepa RmYN02) e *Rhinolophus pusillus* (cepa RpYN06) (ZHOU *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2021; ZHOU *et al.*, 2020^a).

O SARS-CoV-2 apresenta um genoma de RNA de fita simples de sentido positivo (ssRNA) com cauda 5'-cap, 3'-UTR poli(A), no qual existem 14 quadros de leitura aberta (ORFs), que codificam proteínas não estruturais (NSPs) para processos

de replicação e montagem do vírus (ASSELAH *et al.*, 2021; MOHAMADIAN *et al.*, 2021; LU *et al.*, 2020; V'KOVSKI *et al.*, 2021), como apresenta a figura 2. A primeira ORF corresponde a 65% de genoma, aproximadamente, que se traduz em poliproteína pp1a (nsp1–11) ou pp1ab (nsp1–16), entre eles seis NSPs (NSP3, NSP9, NSP10, NSP12, NSP15 e NSP16), com características na replicação viral (NAQVI *et al.*, 2020; MOHAMADIAN *et al.*, 2021). Estão presentes também as proteínas não estruturais, orflab, ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF10 e ORF8, sendo que cada proteína está diretamente ligada à transmissão do vírus e à sua patogenicidade (MASTERS, 2006).

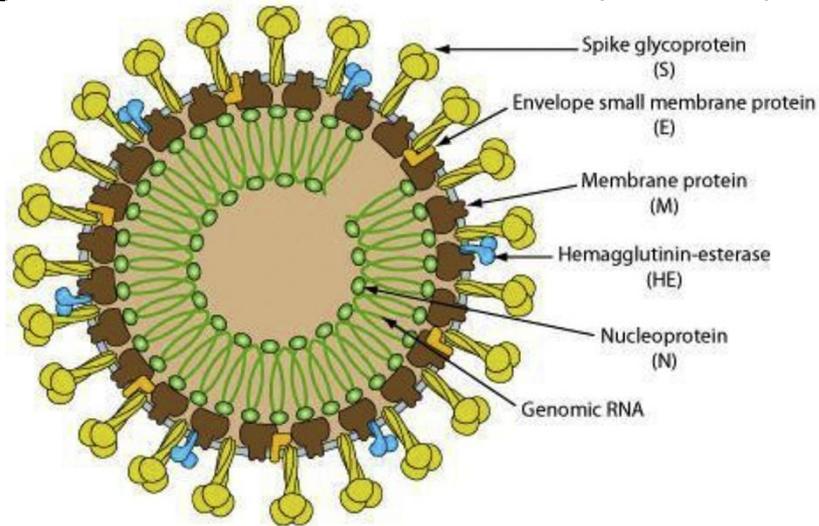
Figura 2 – Genoma viral SARS-CoV-2, 5'-3'.



Fonte: Adaptado de ASSELAH *et al.* (2021).

O vírus também possui proteínas estruturais, contendo, um nucleocapsídeo composto de RNA genômico e proteína de nucleocapsídeo (N) fosforilado. O nucleocapsídeo é circundado por bicamadas fosfolipídicas. Aderidos a esta bicamada, possui dois tipos diferentes de proteínas spike, glicoproteína spike (S) que existe em todos os CoVs, e a hemaglutinina-esterase (HE) presente em alguns *betacoronavírus*. A membrana viral contém a glicoproteína da membrana (M) e a glicoproteína do envelope (E), que estão localizadas entre as proteínas S no envelope viral (BENJAMIN *et al.*, 2006; MOUSAVIZADEH; GHASEMI, 2021; WU *et al.*, 2020) que dão a estrutura viral estabilidade e a participação da entrada e saída nas células hospedeiras, como mostra a figura 3.

Figura 3 – Genoma viral SARS-CoV-2, 5'-cap à 3'-UTR poli(A).



Fonte: MOUSAVIZADEH; GHASEMI (2021).

Os CoVs, bem como, o novo coronavírus, SARS-CoV-2, são capazes de adaptarem em novos ambientes por meio da mutação e recombinação com relativa facilidade, desta maneira, são capazes de alterar o tropismo dos tecidos de forma eficiente e a gama de hospedeiros para sua disseminação (GRAHAM; BARIC, 2010). Para a entrada nas células hospedeiras, o SARS-CoV-2 necessita exclusivamente da proteína spike S. Primeiro, ela se liga ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), região com alta afinidade contida na célula hospedeira pela subunidade S1, reconhecendo e assim ligando à superfície do receptor; em seguida, funde-se as membranas liberando genomas virais na célula hospedeira pela subunidade S2 (CAI *et al.*, 2020; HOFMANN *et al.*, 2005), assim, adentra por meio de proteases celulares e cofatores (MILLET; WHITTAKER, 2015; XIA *et al.*, 2020).

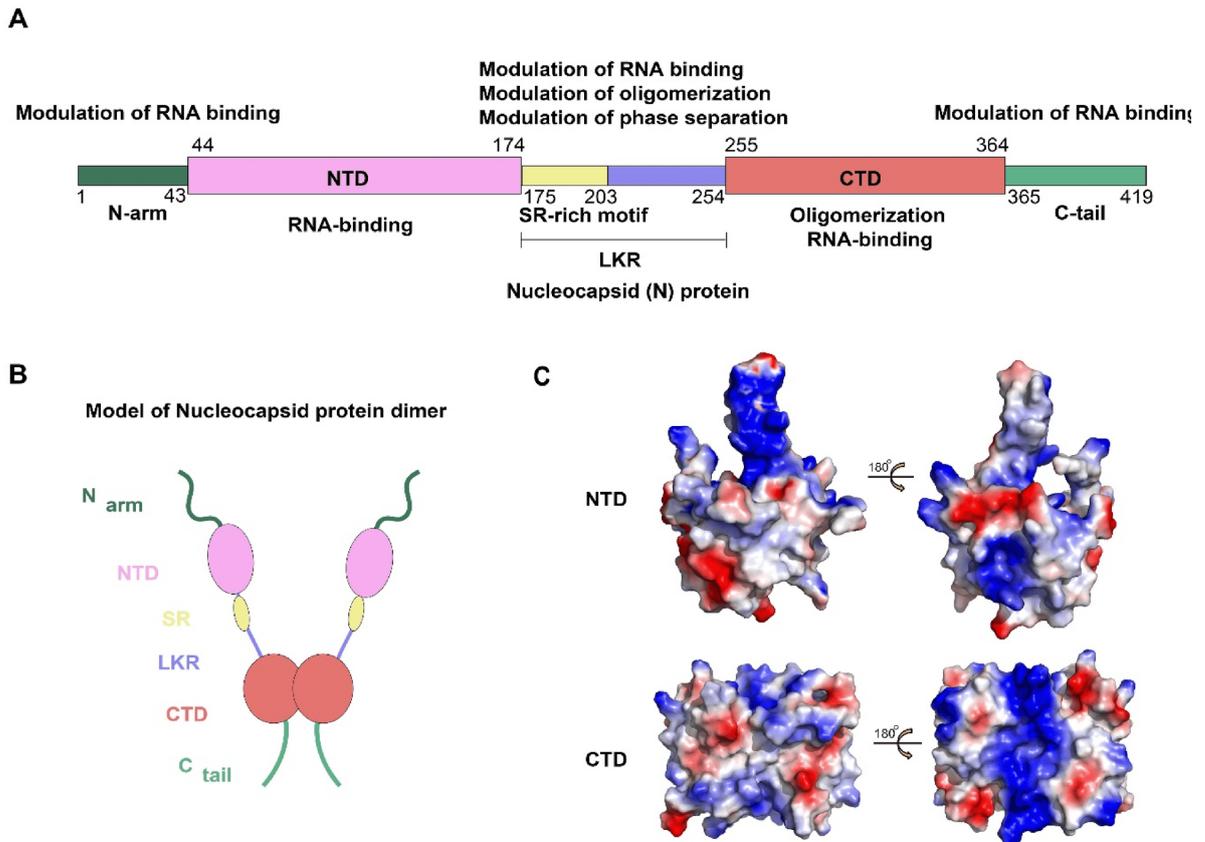
Além disso, a proteína S é capaz de reconhecer outros grupos geneticamente diversos com potenciais para tornarem-se hospedeiros intermediários, a exemplo, dos humanos e morcegos (ZHAI *et al.*, 2020), aumentando as substituições, inserções ou deleções de nucleotídeos, mutações do genoma a favor do vírus o que contribui para a evolução do vírus. Contudo, as mutações ao longo do genoma do SARS-CoV-2 se acumulam preferencialmente na glicoproteína S (HADFIELD *et al.*, 2018), sendo uma característica geral dos membros do gênero *betacoronavírus*.

Outra estrutura crucial de bastante relevância situada no cerne viral ligada no RNA genômico é a proteína do nucleocapsídeo (N), sendo esta a proteína mais abundante em células infectadas produzida durante a infecção viral (LUO *et al.*, 2021).

Além da sua função estrutural, várias outras funções são descritas por essa proteína, como: transcrição do mRNA viral e replicação, onde acontece o pareamento de bases de RNA com polaridades negativas sintetizados por sequências reguladoras de transcrição que precedem a cada gene (SOLA *et al.*, 2005). Assim, a proteína N ajuda as moléculas de RNA a adotar uma conformação funcional (ZÚÑIGA *et al.*, 2007); organização do citoesqueleto, indução de apoptose, ou seja, as células hospedeiras infectadas utilizam-se da morte celular para defesa antiviral. Dessa forma, podem reduzir a replicação viral removendo as células infectadas, importante no processo de invasão celular e processos patogenéticos nas células (PAN *et al.*, 2023; REN *et al.*, 2022; ZHAO *et al.*, 2006); além disso, ocorre a prevenção de possíveis detecções de padrões moleculares.

A proteína N possui uma organização modular em regiões intrinsecamente desordenadas (IDRs) e regiões estruturais conservadas (MASTERS; STURMAN, 1990). Os IDRs apresentam três regiões, N-arm, região central rica em vários dipeptídeos de arginina/serina (LKR) de ligação flexível e C-tail. Já as regiões conservadas apresentam duas regiões, domínio N-terminal (NTD) e domínio C-terminal (CTD) (WANG *et al.*, 2023; BAI *et al.*, 2021), como exemplifica a figura 4 abaixo. A função fundamental da proteína N é empacotar o RNA viral em um longo complexo ribonucleocapsídeo helicoidal (RNP) e também, promover a transcrição e replicação do RNA viral, promovendo uma deficiência a resposta imune da célula hospedeira (NAKAGAWA; LOKUGAMAGE; MAKINO, 2016; YOU *et al.*, 2005). Foi descrito em trabalhos anteriores, e que conferem características conservadas de outros CoVs, que o domínio NTD é a região de ligação com o RNA viral, e o CTD também possui atividade de ligação ao RNA viral e domínio de dimerização, estas regiões são ricas em resíduos contendo cargas positivas, implicando a síntese de nucleocapsídeo (PENG; LEE; TARN, 2008; CHANG *et al.*, 2014; PENG *et al.*, 2020).

Figura 4 – Visão geral e estrutural da proteína N do SARS-CoV-2.



Fonte: BAI *et al.* (2021).

Portanto, além dos genes que codificam as proteínas estruturais, o vírus apresenta genes acessórios específicos para que possam se replicar, sendo elas, RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), hemaglutinina-esterase (HE) e quadro de leitura aberta (ORF1a, ORF1b), onde é compreendido em cerca de dois terços de todo comprimento do genoma viral (MOHAMADIAN *et al.*, 2021; RAI *et al.*, 2021). Como relatado, a proteína N apresenta ampla abundância em células infectadas, fazendo com que ensaios baseados em reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR) fossem utilizados de maneira habitual para teste de diagnóstico rápido em pacientes infectados, desde o início de janeiro de 2020 (TANG *et al.*, 2020). A maioria dos kits disponíveis comercialmente contém as regiões ORF1ab e o gene N como alvo de detecção (DIP *et al.*, 2023; WU *et al.*, 2020).

A princípio, o ensaio de RT-qPCR desenvolvido pela OMS foi direcionado ao gene E, e seguido ao gene RdRp para teste confirmatório (CORMAN *et al.*, 2020). Em contrapartida, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos da América (USA) desenvolveram um ensaio contendo o primer-sonda de

qPCR em duas regiões da proteína do nucleocapsídeo (N1, N2) (HOLSHUE *et al.*, 2020), possibilitando, assim, detectar uma região com alta especificidade, tendo a proteína N como ferramenta para diagnóstico eficiente para a detecção do SARS-CoV-2, e maior sensibilidade comparada ao gene ORF1ab (BAI *et al.*, 2021; MASACHESSI *et al.*, 2022).

O RNA viral obtido através de testes realizados com *swabs* nasofaríngeos ou outras amostras do trato respiratório é medido através do limiar do ciclo (Ct) (CORMAN *et al.*, 2020). O Ct é o número de ciclos de replicação necessários para que possa produzir um sinal fluorescente. Os valores mais baixos de Ct representam cargas mais altas contendo o RNA viral (SETHURAMAN; JEREMIAH; RYO, 2020). No entanto, não há dúvida que existem diferenças nos limites de detecção de cada kit e genes alvo, gerando impacto diretamente na sensibilidade dos diagnósticos (BOGIEL; RZEPKA; DEPKA, 2021). Um valor de Ct abaixo de 40 é normalmente relatado pela ocorrência de caso positivo (VOGELS *et al.*, 2020; SETHURAMAN; JEREMIAH; RYO, 2020), o que depende diretamente do valor de corte do fabricante (DIP *et al.*, 2023). Como exemplo, no estudo conduzido pelos pesquisadores Xu *et al.* (2020), o valor mais alto de Ct foi de 32,04, e 21,54 o mais baixo, com genes alvos ORF1ab e N. O mesmo foi baseado nas recomendações do Guangzhou “*Center for Disease Control and Prevention*” (CDC), definido que um valor de Ct < 37 é considerado positivo, ao passo que valores entre 37 a 40 requerem pelo menos duas repetições.

Em outro estudo realizado pelos pesquisadores Holshue *et al.* (2020), utilizando *swabs* nasofaríngeos, os autores demonstraram que após o aparecimento de sintomas leves no paciente, no dia 4 da doença foram apresentados Ct entre 18 a 20, e no dia 7 Ct entre 23 a 24, respectivamente. Para as amostras de fezes do dia 7 da doença, as amostras positivaram com valores de Ct entre 36 a 38. Em outro estudo, CERRADA-ROMERO *et al.* (2022), relataram que a primeira semana das amostras de fezes positivas, os valores de Ct variaram de 24,5 a 39,6 (mediana 31,2) e na segunda semana, após o início dos sintomas, variaram de 27,2 a 39,1 (mediana 34,5). WU *et al.* (2020), relatam ainda que existe a possibilidade, conforme pesquisas realizadas pelos mesmos, de presença viral nas fezes por quase 5 semanas após amostras respiratórias se tornarem negativas.

3.6. SARS-CoV-2: em águas residuárias

O SARS-CoV-2 necessita como porta de entrada em hospedeiros, os receptores ACE2 (WALLS *et al.*, 2020), proteínas de membrana do tipo I, associadas a doenças cardiovasculares e que estão expressas no pulmão, coração, e sobretudo em células epiteliais intestinais (DONOGHUE *et al.*, 2000; PENNINGER; GRANT; SUNG, 2021). Diante deste fato, por conter receptores no intestino humano, denota-se a presença do RNA viral em fezes de indivíduos infectados sintomáticos e assintomáticos, mesmo após o desaparecimento dos sintomas respiratórios (KITAJIMA *et al.*, 2020; GWENZI, 2021; CERRADA-ROMERO *et al.* 2022; GRUBE *et al.*, 2023).

Uma vez reportado a detecção de RNA viral em amostras de fezes em vários trabalhos (WANG *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2020; XIAO *et al.*, 2020; TANG *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020; CERRADA-ROMERO *et al.*, 2022; HOLSHUE *et al.*, 2020), torna-se importante a investigação do potencial infectológico e a persistência do vírus em material fecal em águas residuárias. Este monitoramento se faz importante pois o vírus pode eventualmente, apontar como uma possível rota de transmissão, à depender das condições da água residuária, e se espalhar via aerossóis ou gotículas de água, levando a contaminação ambiental (VAN DOORN *et al.*, 2020; LEUNG *et al.*, 2020; YEO; KAUSHAL; YEO, 2020; GWENZI, 2021).

Zheng *et al.* (2020) demonstraram que o tempo médio de vida do SARS-CoV-2 nas fezes de pacientes infectados foi de até 22 dias (intervalo interquartil de 17 e 31 dias), além de reportarem que o vírus pode sobreviver por mais tempo nas fezes quando comparado a amostras respiratórias (18 dias, 13-29 dias) e de soro (16 dias, 11-21 dias).

Durante o estudo realizado pelos pesquisadores Joukar *et al.* (2021), foram monitorados 100 pacientes em um hospital na província de Guilan, norte do Irã. A duração mediana da persistência do RNA na nasofaringe foi de 8 dias (IC 95% 6,91-9,09) a partir da entrada no hospital, e a persistência máxima viral foi de 25 dias. A duração mediana da persistência em amostras de fezes foi de 13 dias (IC 95% 6,96-19,4) e a duração máxima de 42 dias. Sendo que para este estudo apenas 6 dos 100 pacientes positivaram com RNA do SARS-CoV-2 em amostras de fezes, o que evidencia, a persistência em fezes quando comparada a amostra de nasofaringe. Nesse trabalho, os pesquisadores deixam explícito a necessidade de mais estudos

para determinar se os casos positivos utilizando PCR se associam a fragmentos de ácidos nucleicos infecciosos ou não infecciosos (JOUKAR *et al.* 2021).

Em outro estudo, Van Doorn *et al.* (2020) concluíram que depois dos testes respiratórios se tornarem negativos, as amostras gastrointestinais permaneceram positivas em um máximo de 33 dias. CEVIK *et al.* (2021), estimaram a excreção média contendo SARS-CoV-2 em fezes por 17,2 dias (IC 95% 14,4-20,1). Esta prevalência do vírus gera condições para que o contágio direto se torne a principal rota de transmissão para água e águas residuárias, a depender das condições ambientais nas quais o vírus estão inseridos.

Porém, uma vez que o SARS-CoV-2 foi confirmado em águas residuárias entre 12 a 16 dias antes dos primeiros casos serem anunciados em alguns municípios da Espanha (RANDAZZO *et al.*, 2020), 6 dias antes do primeiro caso ser relatado em Amersfoort, Holanda (MEDEMA *et al.*, 2020). Na Itália, a detecção do vírus foi descrita pela primeira vez (LA ROSA *et al.*, 2020). Orange Country, na Carolina do Norte, foi relatado a presença do RNA entre 4 a 7 dias antes dos casos serem relatados (GRUBE *et al.*, 2023), o que é amplamente consistente com os dados de literatura. Consolida-se, o uso da WBE como ferramenta para indicar o aparecimento precoce de SARS-CoV-2 em populações, o que se torna importante para alertar as comunidades sobre novas infecções não só a respeito do SARS-CoV-2, bem como de outros patógenos que podem ser detectados em águas residuárias (AHMED *et al.*, 2020; DAUGHTON *et al.*, 2020; MOUSAZADEH *et al.*, 2021; MASACHESSI *et al.*, 2022).

Vários fatores podem afetar a sobrevivência do coronavírus em meio aquoso, o que inclui a temperatura da água, concentração de matéria orgânica, sólidos em suspensão, pH e a concentração de desinfetantes utilizados em tratamento terciário (NANNOU *et al.*, 2020; WEIDHAAS *et al.* 2021; CEVIK *et al.* 2021). Segundo Bivins *et al.* (2020), a temperatura é um fator determinante que influencia diretamente à sobrevivência do vírus, o que tende a um tempo necessário de inativação de 90% (T_{90}) de SARS-CoV-2 em altas temperaturas ($> 20^{\circ}\text{C}$) de 1,5 dias em águas residuárias. Pesquisadores constataram também que o vírus viável sobreviveria a 1,5 dias em águas residuárias brutas quando submetidas a filtração por membranas de poro de $0,22\ \mu\text{m}$ (DE OLIVEIRA *et al.*, 2021), em contrapartida, o T_{90} do SARS-CoV-2 infeccioso a 4°C aumentou em 5,5 dias. Sherchan *et al.* (2023) relataram ainda que o T_{90} no esgoto bruto filtrado por membrana de $0,2\ \mu\text{m}$ foi de 10,8 horas em temperatura

ambiente de 20°C, reduzindo a viabilidade e possibilidade de transmissão do SARS-CoV-2 por via fecal-oral. Weidhaas *et al.* (2021), afirmam que o RNA não é detectável após 6 horas a 35°C, e detectável quando submetido a incubação de 4 a 10°C, se tornando bastante instáveis em águas residuárias.

Em relação à presença de matéria orgânica e sólidos suspensos na água, estes elementos favorecem que os vírus se adsorvam aos colóides e não sejam removidos nas etapas de tratamento, porém, ao mesmo tempo, podem facilitar a remoção dos vírus em virtude de deposição/decantação. Em estudo de caso com SARS-CoV, foram coletadas amostras de efluente primário logo após a decantação e amostras de efluente secundário do sistema de lodos ativados antes da cloração (GUNDY; GERBA; PEPPER, 2009). Foi constatado que a sobrevivência dos coronavírus foram apenas um pouco mais longas em amostras primárias do que às secundárias; isso devido ao nível mais alto de sólidos suspensos, oferecendo proteção contra a inativação. Assim, o SARS-CoV-2, tende a se adsorver a sólidos devido a interações eletrostáticas, influenciadas pela carga de superfície do vírus e interações hidrofóbicas influenciadas pelas proteínas hidrofóbicas do capsídeo viral (ESPINOSA *et al.*, 2022; CÂMARA *et al.*, 2023).

Juntamente com a presença de material orgânico e inorgânico, e dependentes do pH, os colóides podem formar diferentes cargas de superfície, chegando a produzir alterações nas proteínas estruturais do SARS-CoV-2 devido às alterações ao ponto isoelétrico (IEP) (SCHELLER *et al.*, 2020). No IEP ocorre solubilidade e repulsão elétricas mais baixas, favorecendo a agregação e a precipitação. A este efeito, podemos compreender a existência de partículas de argila presentes no meio aquoso, fazendo com que as propriedades adsortivas permitam a adesão do material genético aos colóides pela característica hidrofóbica do vírus envelopado, o que diminui a solubilidade do vírus na água (GUNDY; GERBA; PEPPER, 2009); assim, inibindo e reduzindo o SARS-CoV-2 em meios aquosos (ABDULJAUWAD; HABIB; AHMED, 2020). Características húmicas aos sólidos podem ajudar e influenciar a capacidade adsortiva, produtos químicos dissolvidos e até mesmo a decomposição viral devido a oxidação e atividade metabólica das bactérias e enzimas bacterianas (PETALA *et al.*, 2021). Portanto, as atividades microbianas, areias e outros substâncias podem fornecer superfícies de ligação para os vírus, e ao mesmo tempo sofrer degradação por diferentes microrganismos. Por outro lado, partículas suspensas como material coloidal, blocos químicos ou biológicos podem servir como reservatórios para diversos

vírus, protegendo-os de agentes oxidantes ou degradantes que estão presentes nas águas residuárias (PARRA-ARROYO *et al.*, 2022). Peccia *et al.* (2020), Kocamemi *et al.* (2020), relatam a detecção do SARS-CoV-2 em lodo ativado em estações de tratamento. Pecson *et al.* (2021), mostraram, em sua pesquisa, que a remoção de sólidos reduziu as concentrações médias do SARS-CoV-2 em 15%. Além, Jørgensen *et al.* (2020), indicam a presença de RNA em fase sólida em cerca de 50% dos dados amostrais analisados.

Chin *et al.* (2020) investigaram a estabilidade do SARS-CoV-2 em relação ao pH do meio e concluíram que o vírus era extremamente estável em uma ampla faixa de pH de 3,0 a 10, à temperatura ambiente. Varbanov *et al.* (2021) investigaram o efeito de pH na faixa de 9 a 12 na inativação do SARS-CoV-2 infeccioso em águas residuárias por 10 minutos em temperatura ambiente e observaram que houve uma ligeira diminuição ($<1 \log_{10}$ unidades) em pH 9 ou 10, enquanto que em pH 11 houve uma redução de aproximadamente $5,5 \log_{10}$ unidades. Este resultado considerável na redução do vírus em $\text{pH} > 11$ fornece benefícios acerca do tratamento do lodo das ETE's associado ao tratamento de patógenos, uma vez que se necessita aplicar cal no lodo para elevar o pH, a fim de estabilizá-lo para uso na agricultura.

Com relação a detecção do SARS-CoV-2 em águas residuárias brutas, Tangwangvivat *et al.* (2023), relataram a presença do material genético em 19 de 36 amostras todas para a detecção do gene N. Os valores de Ct do RT-qPCR coletadas do hospital de campanha foram de 24,87-33,14 (média 29,49). Para amostras brutas de um condomínio com 2.000 quartos, foram 24,05-26,33 (média 25,06). Amostras de águas residuárias brutas de um mercado, 26,81-31,16 (média 28,66). Cerrada-Romero *et al.* (2022), encontraram amostras positivas com valores de Ct variando de 24,3 a 39,6 para o gene E em amostras de fezes. Ambos os trabalhos citados anteriormente foram aceitos valores de $\text{Ct} < 40$ para validação da detecção, e valores acima foram considerados negativos.

Islam *et al.* (2023), estudaram uma casa com pacientes com COVID-19 direcionada para monitorar a prevalência do vírus em amostras de águas residuárias visando o gene N e ORF1ab durante um mês. Os autores relataram que, quando o número de pacientes com a infecção era menor, o valor mais alto de Ct foi de 39,4. Por outro lado, quando observado as maiores pessoas com infecção o menor valor de Ct foi de 25,2. Em outro estudo, conduzido pelos pesquisadores, D'Aoust *et al.* (2023),

relatam que a detecção de maior frequência foi no gene N com 92,7% em lodo primário e 79,2% em sólidos afluentes após o desarenador de águas residuárias no Canadá.

3.7. SARS-CoV-2: em diferentes tipos de tratamento

Os excrementos gerados pela atividade fisiológica humana podem ou não chegar às estações de tratamento de águas residuárias (ETAR ou ETE) para receberem o devido tratamento. Em países subdesenvolvidos e/ou em desenvolvimento, por exemplo, a falta de infraestrutura e a realidade econômica se tornam impasses para que tais materiais recebam disposições ambientalmente adequadas, ocasionando preocupações quanto à possibilidade de transmissão fecal-oral na população pela reutilização de águas residuárias em diferentes atividades humanas (PANDEY *et al.*, 2021; GWENZI, 2021). Estudos futuros são essenciais para gerar evidências devido ao risco de disseminação e transmissão do SARS-CoV-2 em águas residuárias (AMIN *et al.*, 2023; BHATTACHARYA *et al.*, 2021), que, no entanto, nenhum estudo afirma conclusivamente a transmissão fecal-oral de SARS-CoV-2 por meio de águas residuárias não tratadas ou tratadas, devendo ser minuciosamente investigada a efeito, sobretudo, para comunidades deficientes de saneamento (GIACOBBO *et al.*, 2021; PANDEY *et al.*, 2021).

Sherchan *et al.* (2020) coletaram 9 amostras compostas e 6 amostras simples de águas residuárias em duas ETEs, durante janeiro a abril de 2020, de modo que os pontos de coleta foram afluente não tratado, tratamento secundário (ambas utilizavam lodo ativado convencional) e efluente final pós desinfecção com cloro. Os resultados mostraram que em cerca de 13% das águas brutas (não tratadas) foram detectados RNA de SARS-CoV-2, já as amostras de efluentes do tratamento secundário e efluentes com o uso de desinfetante negativaram para o RNA do SARS-CoV-2. Espinosa *et al.* (2022), observaram remoção de 70% do RNA do vírus SARS-CoV-2 em esgotos domésticos, em um sistema composto por reator UASB (“*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*”) seguido por duas lagoas de algas de alta taxa. O que demonstra que lagoas são sistemas com elevado potencial contra patógenos, devido ao alto valor do tempo de detenção hidráulica (TDH), radiação solar, atividade microbiana e pH elevado (ROLLEMBERG; DE BARROS; DE LIMA, 2020). Tais resultados sugerem, portanto, que o vírus foi removido pelo processo de tratamento,

enaltecendo a importância destes sistemas no combate à via de transmissão secundária de patógenos infecciosos.

Embora existam estudos confirmando a presença de RNA viral em águas residuárias, isso não implica que tal vírus esteja ativo de modo que cause uma infecção. Assim, de acordo com testes de infecciosidade realizados por Rimoldi *et al.* (2020), os autores confirmaram que a patogenicidade do SARS-CoV-2 em águas residuárias é desprezível devido à ausência do efeito citopático (ECP), ou seja, alterações estruturais causadas pelo vírus em células, quando submetidos às células de cultura, reforçando os efeitos da etapa de pós tratamento dos efluentes como um método de inativação do vírus.

Estudo realizado por Zhang *et al.* (2020), ilustra que uma dosagem de 6700 g/m³ de hipoclorito de sódio durante uma hora e meia resultou na eliminação completa do RNA do SARS-CoV-2 em efluentes de fossas sépticas hospitalares. Arora *et al.* (2021) argumentam que o efeito da cloração influencia a concentração do RNA do SARS-CoV-2 se a demanda de cloro for atendida.

Alguns pesquisadores relataram a presença do RNA do SARS-CoV-2 em águas residuárias não tratadas. Apesar disso, o RNA não foi detectado em amostras de efluentes após tratamento terciário com uso de NaClO e a combinação de NaClO e UV (RANDAZZO *et al.*, 2020). Sugere-se, portanto, que o uso de desinfetantes convencionais em processos de tratamento de água é suficiente para inativar o vírus, assegurando água de qualidade aos consumidores sem riscos à saúde.

Como o SARS-CoV-2 é um vírus envelopado por uma frágil membrana lipídica e derivado da mesma família dos vírus MERS-CoV e SARS-CoV, suas propriedades bioquímicas e físicas apresentam características semelhantes, gerando exemplos similares para efeito de comparação a estudos com uso de desinfetante como modo de inativação. Dentre os métodos de inativação desenvolvidos para o SARS-CoV-2 e seus substitutos estão: ozonização, cloração, luz ultravioleta, adsorção e métodos avançados de oxidação. (ZAHMATKES; AMESHO; SILLANPÄÄ, 2022; MAJUMDER, *et al.*, 2021)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com coletas de amostras de esgoto da entrada da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) – UFLA, situada dentro da Universidade

Federal de Lavras e que trata o esgoto gerado no campus universitário, e da ETE - Ribeirão Vermelho, gerenciada pela Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA), e que realiza o tratamento de esgoto de parte do município de Lavras - MG. Além desses pontos, o estudo contou com outros três pontos amostrais situados no município, sendo eles: centro, colégio e uma casa de repouso.

Em cada ponto amostral, uma alíquota foi coletada a cada 15-30 min para amostragem composta, totalizando 5 L de esgoto. As coletas eram semanais e foram realizadas entre os dias 11 de maio de 2021 a 16 de junho de 2021, totalizando seis semanas. Não foi possível a realização de algumas coletas em função de questões operacionais, sendo elas, dia 11 de maio e 02 de junho para a casa de repouso; 11 e 18 de maio, e dia 02 de junho para o centro; e dia 02 de junho para o colégio. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com 4 unidades de gelo gel artificial reutilizável de 500 mL até serem encaminhadas para o Laboratório de Águas Residuárias e Reuso de Água do Departamento de Engenharia Ambiental (DAM) da UFLA para análises dos parâmetros físicos, químicos e biológicos; e para o Laboratório de Microbiologia Aplicada ao Saneamento, onde foram mantidas em freezer a -20 °C até a etapa de concentração viral.

Assim que as amostras chegavam ao laboratório, realizava-se, primeiramente, a aferição do potencial hidrogeniônico (pH) através do medidor multiparâmetro HANNA modelo HI98196. Para a caracterização dos parâmetros físicos e químicos, foram feitas análises de sólidos em suspensão totais (SST) pelo método gravimétrico e demanda química de oxigênio (DQO) pelo método de refluxo fechado colorimétrico (APHA, 2012). Durante esta etapa de análise química e física das amostras, foram utilizados apenas 250 mL de cada amostra, sendo que as alíquotas foram definidas de acordo com os métodos. As escolhas das variáveis se justificam pelo fato de o pH interferir na viabilidade de microrganismos, e SST e DQO por servirem de proteção e abrigo para diversos patógenos e sua prevalência (NANNOU *et al.*, 2020; WEIDHAAS *et al.* 2021; CEVIK *et al.* 2021; PETALA *et al.*, 2021; ESPINOSA *et al.*, 2022; CÂMARA *et al.*, 2023).

Anteriormente à extração do material genético do SARS-CoV-2, procedeu-se à etapa de concentração da amostra pelo método de filtração em membrana eletronegativa. Posteriormente, realizou-se a extração do RNA viral utilizando-se o kit AllPrep PowerViral DNA/RNA (Qiagen Alemanha) no Laboratório de Microbiologia da

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), por meio de parceria entre a UFLA e a referida instituição.

O RNA do vírus foi detectado por transcrição reversa seguido de reação em cadeia da polimerase (do inglês, “*Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction, RT-PCR*”), utilizando-se *primers* e sondas do kit Allplex 2019-nCoV Assay (Seegene Brazil, Belo Horizonte, Brasil) validado no Laboratório de Diagnóstico Molecular (LABMOL) da UFLA onde o RT-PCR foi realizado. Utilizou-se um volume final de 25 μ L de reação, utilizando-se 5 μ L do material genético (“*template*”) para a detecção das regiões N do genoma de Sars-CoV-2, bem como para a detecção do gene E (subgênero *Sarbecovirus*, no qual incluem-se os SARS-Cov e SARS-Cov-2). As reações foram realizadas seguindo as instruções do fabricante.

O número de novos casos confirmados de COVID-19 foi obtido diretamente dos boletins epidemiológicos emitidos pela Prefeitura de Lavras (2021). A esses novos casos, correspondem os testes positivos realizados em laboratórios públicos e privados do município.

A estatística descritiva dos dados foi obtida mediante aplicação destes a linguagem de programação, R *version* 4.2.2, através do qual também foram elaborados os recursos gráficos (gráficos de dispersão e *box plots*) para apresentação dos dados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos no período do dia 11 de maio a 16 de junho de 2021, foram analisados semanalmente a contar da data inicial para todos pontos amostrais coletados, totalizando 6 semanas.

Os resultados obtidos para caracterização dos afluentes estão apresentados graficamente com os seguintes parâmetros: pH, SST e DQO, com o objetivo de interpretar os resultados moleculares de detecção do SARS-CoV-2.

Por meio de estatística descritiva os resultados estão apresentados na forma de média, mediana, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação (cv), onde a este coeficiente houve homogeneidade dos dados para todos os pontos de coleta.

Desse modo, houve similaridade no valor mediano de pH das amostras ETE – UFLA e Colégio, sendo, respectivamente, de 7,40 e 7,55. E outra proximidade entre

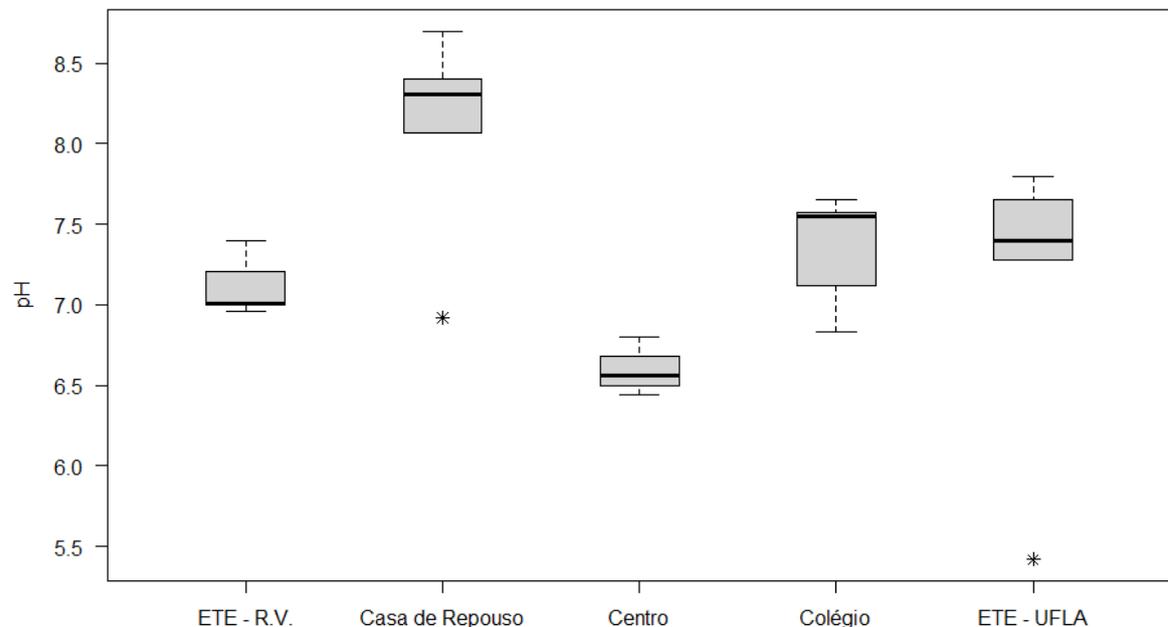
Centro e ETE- Ribeirão Vermelho - medianas de 6,56 a 7,00 unidade de pH. Além disso, 80% das amostras apresentam pH entre 6,5 e 7,0 (Figura 5).

Quanto aos valores de pH encontrados, aproximadamente, 80% em faixas de 6,5 a 7,0 unidades de pH indicando neutralidade nas amostras, o que pode ser causado com substâncias dissolvidas que neutralizam ácidos.

Porém, o ponto Casa de repouso apresentou pH acima da faixa de representatividade de 80% dos dados, com características mais básicas para tal efluente, que, segundo a literatura, é relatada a diminuição da carga viral e podendo ser inativado. E, ao contrário, o ponto amostral ETE- UFLA apresentou um *outlier* com característica de pH mais ácido, o que pode ajudar na estabilidade do vírus.

Em geral, apenas a amostra da Casa de repouso pode apresentar uma ligeira instabilidade e inativação da carga viral. O pH só tem interferência para a sobrevivência do vírus no esgoto quando for básico, o que pode levar a diminuição da carga viral e de sua estabilidade (VARBANOV *et al.* 2021). Porém, a faixa de 5 a 7,4 é uma faixa estável para os coronavírus (CASANOVA *et al.*, 2009). E os demais pontos, com pH estável para detecção do vírus.

Figura 5 – *Box plot* das concentrações de pH para cada ponto.

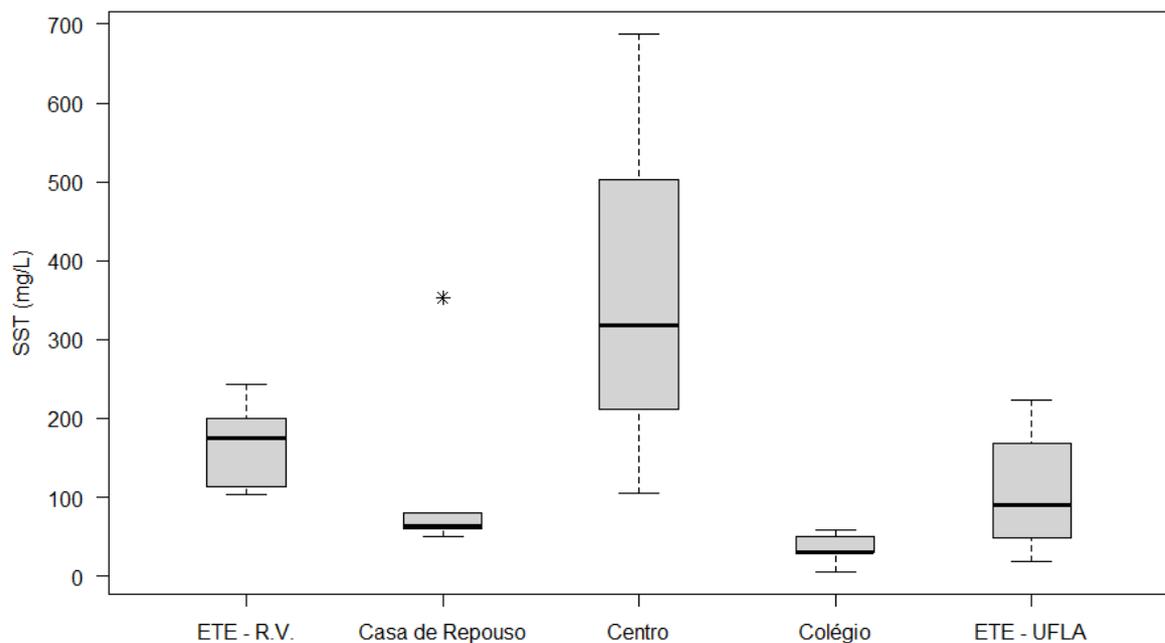


Fonte: Do autor (2023).

Para a variável SST (Figura 6), os pontos Casa de Repouso e Colégio apresentam menores teores, variando de 17 a 80 mg/L com uma discrepância próxima a mediana do ponto amostral Centro. A ETE – Ribeirão Vermelho e ETE – UFLA,

apresentam valores próximos de concentração, variando de 53 a 220 mg/L. O ponto centro apresenta maiores valores de concentração de sólidos suspensos, de 211 a 503 mg/L, o que pode ajudar na adsorção do material genético (ESPINOSA *et al.*, 2022; CÂMARA *et al.*, 2023). Visto que as ETEs – Ribeirão Vermelho e UFLA podem, também, apresentar característica propícia. Com base nos valores apresentados por Jordão e Pessoa (2017), os pontos Colégio, Casa de repouso e as duas ETEs apresentam faixas típicas de esgoto fraco, sendo apenas o ponto Centro caracterizado como esgoto forte, uma vez que representa uma região mais densa e maior número de comércios, o que pode acarretar no despejo de gordura e resíduos de cozinha que, à princípio, não deveriam ser lançados na rede de esgoto.

Figura 6 – *Box plot* das concentrações de SST para cada ponto amostrado.

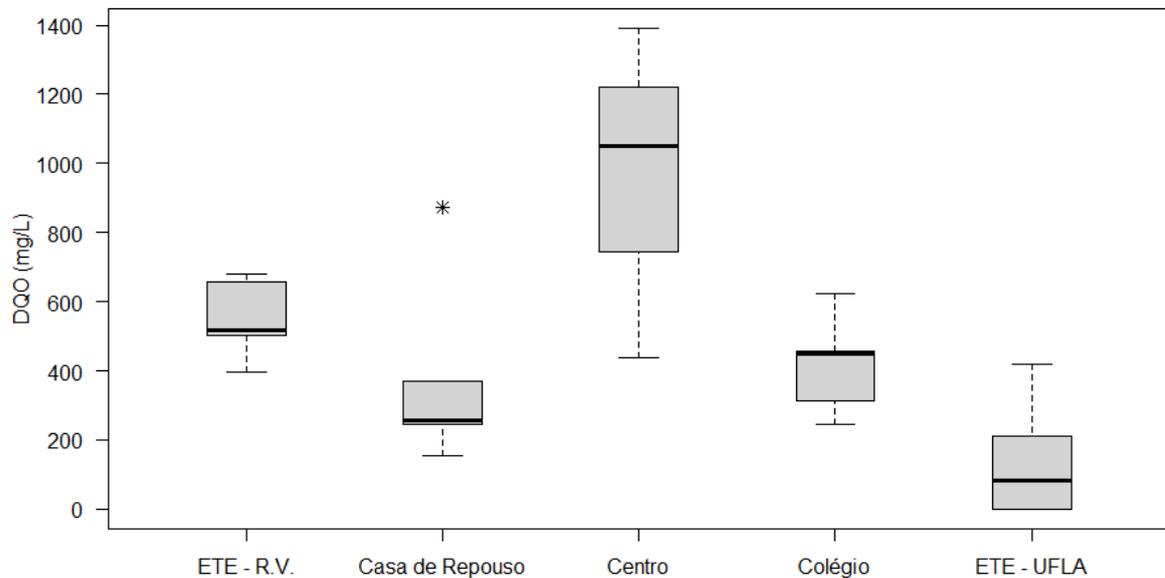


Fonte: Do autor (2023).

A DQO se apresenta como um dos principais parâmetros para que se possa caracterizar os esgotos domésticos, por fornecer dados ao que se refere à concentração de matéria orgânica total, biodegradável e não biodegradável (VON SPERLING, 2017). Embora os esgotos domésticos possuam características típicas, elas podem variar em diferentes locais, devido às condições socioeconômicas da população e hábitos alimentares.

De acordo com Jordão e Pessoa (2011), no Quadro 1, apenas o ponto Centro se caracteriza como um esgoto forte, como mostra a figura 7, com alto teor de matéria orgânica em sua composição, seja ela biodegradável ou não. Assim, mesmo para os outros pontos, a concentração de matéria orgânica é favorável para que o vírus se encontre aderido às partículas.

Figura 7 – *Box plot* das concentrações de DQO para cada ponto amostrado.



Fonte: Do autor (2023).

A Estação de Tratamento de Esgoto Ribeirão Vermelho (ETE – Ribeirão Vermelho), está localizada na rodovia Zito de Abreu, conhecida como Estrada do Madeira, no entorno do município de Lavras. De acordo com dados do Relatório de Esgotamento Sanitário Municipal do SNIS (SNIS, 2022), a referida ETE trata o esgoto de 59.694 habitantes com eficiência de DBO 75,94%. Há perspectivas para ampliação da mesma com horizonte até o ano de 2035, com previsão de eficiência de DBO de 93%, e com população estimada de atendimento de 73.269 habitantes. Por não ser uma região de *hotspot*, ou seja, locais onde não se tem o contato entre um grande número de pessoas por muito tempo, como, casa de repouso, hospitais e restaurantes (BOUFFANAIS; LIM, 2020; STEHLÉ *et al.*, 2011), e por apenas ser compreendida como uma região domiciliar, se infere a negar conceitualização de *hotspot*.

Quadro 1 - Características típicas de variáveis de esgotos sanitários brutos.

Variável	Unidade	Faixa ⁽¹⁾	Faixa ⁽²⁾			Faixa ⁽³⁾
			Esgoto fraco	Esgoto médio	Esgoto forte	
Sólidos Totais	mg L ⁻¹	700-1350	370	730	1160	200-1200
Sólidos Suspensos Totais	mg L ⁻¹	200-450	120	230	360	100-500
Sólidos Dissolvidos Totais	mg L ⁻¹	500-900	250	500	800	100-850
Sólidos Fixos Totais	mg L ⁻¹	340-650	175	355	580	80-300
Sólidos Voláteis Totais	mg L ⁻¹	365-700	195	375	580	100-700
Sedimentáveis	mL L ⁻¹	10-20	5	10	20	5-20
DBO	mg L ⁻¹	250-400	100	200	400	20-400
DQO	mg L ⁻¹	450-800	200	400	800	170-1000
Nitrogênio Total	mg L ⁻¹	35-60	20	40	85	20-90
Nitrogênio Orgânico	mg L ⁻¹	15-25	10	20	35	
Nitrogênio Amoniacal	mg L ⁻¹	20-35	10	20	50	10-50
Nítrito	mg L ⁻¹	0	0	0	0,05	
Nitrato	mg L ⁻¹	0-1	0	0,05	0,1	
Fósforo Total	mg L ⁻¹	4-15	5	10	20	4-12
Fósforo Orgânico	mg L ⁻¹	1,0-6,0	2	4	7	
Fósforo Inorgânico	mg L ⁻¹	3,0-9,90	3	6	13	
pH	-	6,7-8,0	6,5-7,5	6,5-7,5	6,5-7,5	6,8-7,2
Condutividade elétrica	dS m ⁻¹					0,48-3,60

Fonte: Von Sperling ⁽¹⁾ (2017), Jordão e Pessôa ⁽²⁾ (2011) e Matos e Matos ⁽³⁾ (2017).

De acordo com o Quadro 1 acima, pode-se comparar as variáveis físicas e químicas de efluentes domésticos que chegam a ETE Ribeirão Vermelho, analisadas pela tabela 1 abaixo. A distribuição da matéria orgânica bem como os sólidos no esgoto, afeta diretamente as características que envolvem os processos que compõem o sistema de tratamento, bem como, taxas de sedimentação, adsorção e reação bioquímicas (JORDÃO; PESSÔA, 2011). Visto que as variáveis se enquadram em valores típicos e os dados apresentaram cv baixos, infere-se que há homogeneidade nos dados amostrais.

Tabela 1 - Estatística descritiva das variáveis analisadas. ETE - Ribeirão Vermelho.

	MÉDIA	MEDIANA	MÁXIMO	MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
pH	7,10	7,00	7,40	6,96	0,18	0,02
SST	168,17	175,00	234,00	103,00	53,29	0,32
DQO	545,67	518,00	681,00	398,00	105,56	0,19

Fonte: Do autor (2023).

É evidente que se tenha circulação de carga viral em esgotos domésticos, como afirmam diversos pesquisadores (WANG *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2020; XIAO *et al.*, 2020; TANG *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020; CERRADA-ROMERO *et al.*, 2022; CEVIK *et al.*, 2021), assim, pode-se detectar a presença do gene N nas respectivas semanas apresentada pela tabela 1.1. O maior valor de Ct, respectivo da semana 5, como descrito em literatura apresenta a esta semana menor carga viral, onde compreendeu-se abaixo do primeiro quartil e acima do terceiro quartil para as variáveis SST e DQO, respectivamente. E para pH, apenas as semanas 1, 4 e 5 estiveram dentro do intervalo de Q1-Q3 juntamente com semanas 1, 2 e 4 para as variáveis SST e DQO de detecção. A maior detecção viral ocorreu na semana 2, o que representa baixo Ct. Em paralelo aos novos casos relatados pela prefeitura municipal, na semana 1, 59 novos casos foram relatados, na semana 2, 64 e 107 novos casos para semana 4, o que coincide com os valores crescentes de casos e do limiar do ciclo.

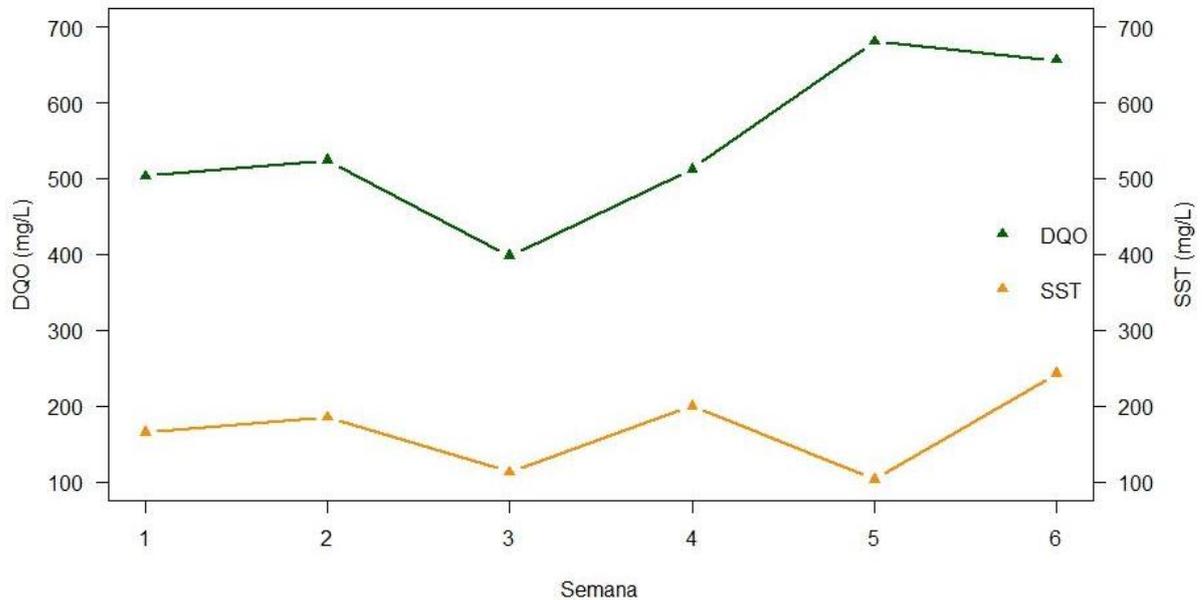
Assim, como verificado pelas amostras, a DQO favoreceu para detecção do material genético viral, como mostra a figura 8, pela concentração semanal de DQO.

Tabela 1.1 - Detecção do gene N nas semanas de amostra. ETE - Ribeirão Vermelho.

	Gene N (Cye5)
Semana 1	34,27
Semana 2	24,29
Semana 4	30,46
Semana 5	35,15

Fonte: Do autor (2023).

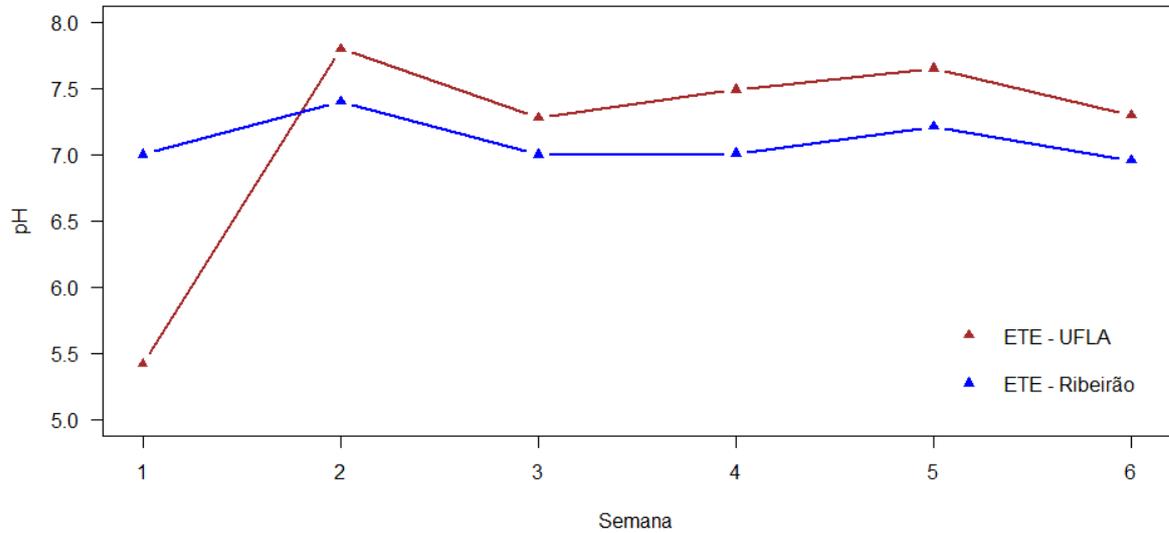
Figura 8 – Valores referentes a variável DQO e SST da ETE - Ribeirão Vermelho a cada semana de análise.



Fonte: Do autor (2023).

Através da figura 9 abaixo, é possível visualizar graficamente que apenas na primeira semana de análises houve uma redução ao pH da ETE – UFLA, o que manteve linear as seguintes semanas. A isto, pode-se deduzir a utilização de reagentes ácidos utilizados aos laboratórios, a lembrar que a esse período amostral apenas estudantes e servidores tinham acesso a instituição, principalmente em caráter de produção de pesquisas científicas. Outra justificativa da baixa poderia ser por efeitos analíticos ou calibração de equipamentos. Já a ETE – Ribeirão Vermelho, manteve-se contínua em todo período.

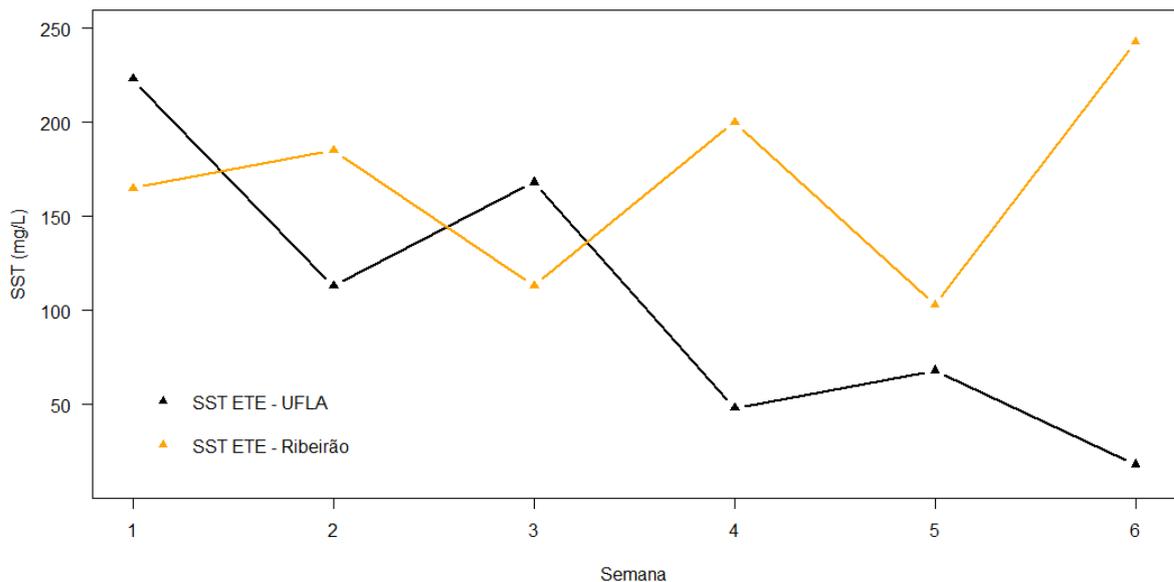
Figura 9 – Valores referentes a variável pH das Estações de Tratamento de Esgoto UFLA e Ribeirão Vermelho a cada semana.



Fonte: Do autor (2023).

De acordo com a Figura 10, também houve uma diminuição nas concentrações de sólidos suspensos para a semana 1 e 3 na ETE – Ribeirão Vermelho, e aumento a estas 9 semanas na ETE – UFLA. O que pode ser justificado pela diminuição de matéria orgânica e aumento das duas semanas como mostra a figura 11, o que seria condizente com a relação SST e DQO.

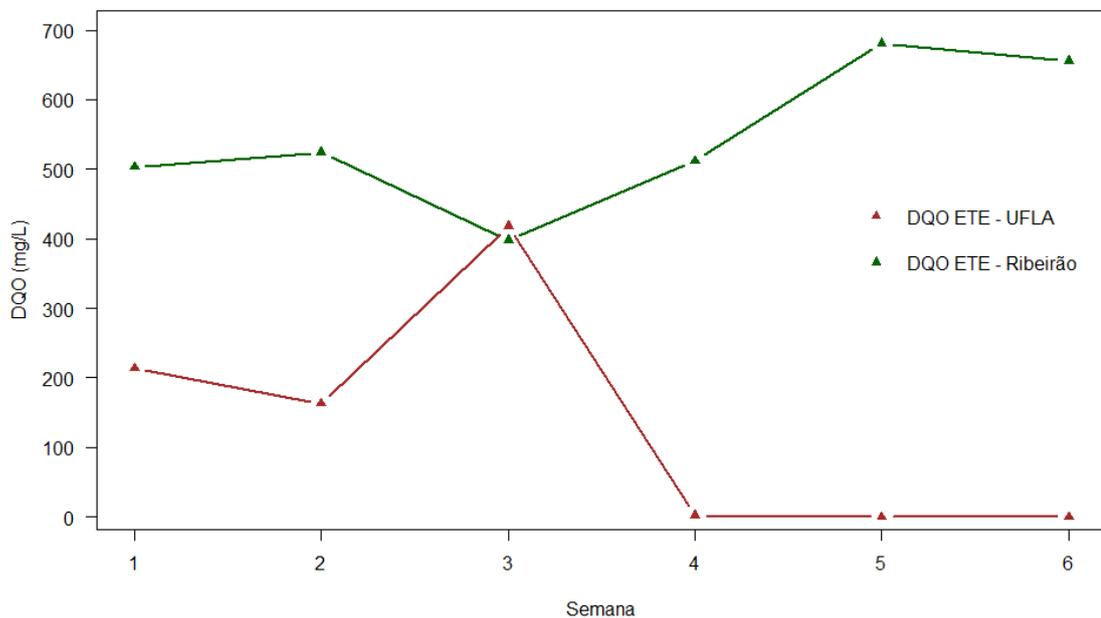
Figura 10 – Valores referentes a variável SST das Estações de Tratamento de Esgoto UFLA e Ribeirão Vermelho a cada semana.



Fonte: Do autor (2023).

Quanto a variável DQO, houve uma ligeira aproximação na semana 3 para as duas estações (Figura 11), e grande discrepância para as outras semanas. Para essa explicação, podemos citar a população atendida pela ETE – Ribeirão Vermelho, que contempla aproximadamente 60.000 habitantes, aumentando significativamente o teor de matéria orgânica biodegradável ou não biodegradáveis lançados à rede. A lembrar, a ETE – UFLA estava operando em níveis baixos devido às restrições de acesso aos estudantes impostas pela pandemia de COVID.

Figura 11 – Valores referentes a variável DQO das Estações de Tratamento de Esgoto UFLA e Ribeirão Vermelho a cada semana.



Fonte: Do autor (2023).

Para o ponto amostral Casa de repouso, podemos identificar o pH como sendo o mais alto comparado a todos os pontos amostrais, chegando a um máximo de 8,70 como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Estatística descritiva das variáveis analisadas. Casa de repouso.

	MÉDIA	MEDIANA	MÁXIMO	MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
pH	8,08	8,31	8,70	6,92	0,69	0,08
SST	121,20	63,00	353,00	50,00	130,03	1,07
DQO	379,40	255,00	873,00	153,00	286,47	0,76

Fonte: Do autor (2023).

Para a detecção na Casa de repouso houveram duas repetições, pelo fato de ter detectado material genético na semana 2a e por ser uma casa de repouso para idosos, trazendo preocupações quanto à saúde dos residentes. Apenas na semana 2, a variável pH esteve acima do terceiro quartil, já as variáveis SST e DQO estiveram compreendidas dentro do intervalo Q1-Q3. Inferindo que o potencial hidrogeniônico influenciou significativamente na detecção do gene. Semelhante ao relatado por Islam *et al.* (2023), a excreção viral coletado na rede de esgoto atingiu o pico quando houve o maior número do ciclo e seguido de menor número do ciclo para detecção, que demonstra uma maior carga viral para a semana 2 comparada a semana 2a.

Tabela 2.1 - Detecção do gene N nas semanas de amostra. ETE - Casa de repouso

	Gene N (Cye5)
Semana 2a	33,22
Semana 2	24,44

Fonte: Do autor (2023).

Mediante análise da Tabela 3 e da Figura 7 (*box plot*), é evidente o aumento da variável DQO na região Central em relação aos outros pontos, com máximo de 1.391 mgO₂/L. Tal fato pode ser caracterizado pela destinação incorreta de resíduos de cozinhas por ser uma região, em geral, com intenso fluxo comercial e varejista, de tal modo que características não biodegradáveis possam ser vinculadas a este esgoto.

Tabela 3 - Estatística descritiva das variáveis analisadas. Centro.

	MÉDIA	MEDIANA	MÁXIMO	MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
pH	6,60	6,56	6,80	6,44	0,18	0,03
SST	370,33	318,00	688,00	105,00	295,00	0,80
DQO	960,33	1051,00	1391,00	439,00	482,43	0,50

Fonte: Do autor (2023).

A detecção do SARS-CoV-2 também ocorreu na semana 3 tanto para o ponto amostral Centro, Colégio, e ETE – UFLA, momento em que houve aumento no número de casos no município. Juntamente a este fator externo, as variáveis pH e SST contribuíram para a detecção do gene, uma vez que, na semana 3, foram apresentados menor potencial hidrogeniônico e maior partículas suspensas no esgoto.

Tabela 3.1 - Detecção do gene N na semana de amostra. ETE - Centro.

	Gene N (Cye5)
Semana 3	35,94

Fonte: Do autor (2023).

Escolas e creches parecem fornecer um ambiente ideal para a transmissão do coronavírus porque grandes grupos se reúnem em ambientes fechados por longos períodos de tempo, assim, uma vez que as crianças são susceptíveis, elas podem transmitir o SARS-CoV-2 da escola para a comunidade (BOUFFANAIS; LIM, 2020; LACHASSINNE *et al.*, 2021). Na Tabela 4 é apresentada a estatística descritiva do ponto amostral Colégio para as variáveis analisadas.

Tabela 4 - Estatística descritiva das variáveis analisadas. Colégio.

	MÉDIA	MEDIANA	MÁXIMO	MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
pH	7,34	7,55	7,65	6,83	0,35	0,05
SST	34,60	30,00	58,00	5,00	20,63	0,60
DQO	418,60	451,00	624,00	245,00	146,34	0,35

Fonte: Do autor (2023).

Crianças apresentam formas mais leves ou assintomáticas à doença (GÖTZINGER *et al.*, 2020). Mesmo sabendo da possível transmissão, apenas na semana 3 houve a detecção do material genético do SARS-CoV-2 na rede de esgoto do colégio. Para a escola, a detecção do gene coincide entre a mediana e o terceiro quartil para pH e SST. Para DQO o valor na qual pode-se detectar o gene, está compreendido entre o primeiro quartil e a mediana; em ambas variáveis, a detecção do gene compreende-se em Q1-Q3 dos dados amostrais.

Tabela 4.1 - Detecção do gene N na semana de amostra. ETE - Colégio

	Gene N (Cye5)
Semana 3	35,88

Fonte: Do autor (2023).

De acordo com Nugawela *et al.* (2022), em uma análise contendo 248 amostras de 16 escolas na Inglaterra. Os valores de pH, SST e DQO, onde se detectaram o gene N1 e/ou E, de mediana foram, 7,5, 140, 295, respectivamente. Os valores

medianos para todos os parâmetros de análise de águas residuárias de escolas inglesas são ligeiramente mais baixos quando houve a detecção do gene quando comparado aos valores sem a presença do gene. A efeito de comparação, no presente estudo, apenas a variável DQO houve detecção em valor abaixo da mediana e o primeiro quartil, onde se compreende apenas 25% da representatividade dos dados. Porém, as semanas 1, 5 e 6 apresentam valores abaixo ou iguais a mediana para pH e não houve detecção, bem como, para as semanas 1, 2 e 5 para SST, e semana 5 para DQO.

Diversos autores citam a presença de matéria orgânica como um fato determinante para a presença do SARS-CoV-2 (PECSON *et al.*, 2021; PECCIA *et al.*, 2020; KOCAMEMI *et al.*, 2020; JØRGENSEN *et al.*, 2020), porém, mesmo contendo altos valores nas semanas 1, 2 e 6, não houve a detecção do SARS-CoV-2. A isto, pode-se inferir que as variáveis físicas e químicas não foram fator limitante para a detecção. Assim, o fator externo, número de novos casos, relatado pelo Boletim Epidemiológico do município de Lavras no dia 18 de maio, a uma semana anterior das análises físicas, químicas e moleculares, notificou 64 novos casos para a semana de análise ao dia 25 de maio, houveram 91 novos casos, e à duas semanas posterior da detecção do SARS-CoV-2 no dia 09 de maio, a prefeitura municipal notificou 88 novos casos. Sendo assim, o maior número de registro de novos casos na semana 3, hipoteticamente, foi um fator que pode ter influenciado na detecção do gene viral.

Observa-se, que no período monitorado, o esgoto ETE – UFLA, apresenta características de esgoto fraco, como mostra o quadro 1. Pondera-se que as características sofrem grandes alterações como relatado por Oliveira *et al.* (2022), com valores de pH, SST e DQO, $6,98 \pm 0,25$, 585 ± 74 e 1200 ± 200 , respectivamente. Em outra pesquisa, Fialho (2019), relatou os seguintes valores médios afluentes, $7,63 \pm 0,36$, $188,22 \pm 244,7$ e $384,33 \pm 195,9$ em período de férias; e $7,6 \pm 0,43$, $137,7 \pm 77,71$ e $674,51 \pm 332,61$, em período de aula, para as variáveis pH, SST e DQO, respectivamente. Assim, as características podem variar de fraco a forte, com consequência da variabilidade, podendo então, haver baixa biodegradabilidade, o que influencia diretamente no processo de tratamento, fazendo com que exista baixo potencial microbiológico para degradar a matéria orgânica presente no esgoto.

Tabela 5 - Estatística descritiva das variáveis analisadas. ETE - UFLA

	MÉDIA	MEDIANA	MÁXIMO	MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
pH	7,16	7,39	7,80	5,42	0,87	0,12
SST	106,33	90,50	223,00	18,00	77,63	0,73
DQO	132,67	82,50	418,00	0,00	167,97	1,27

Fonte: Do autor (2023).

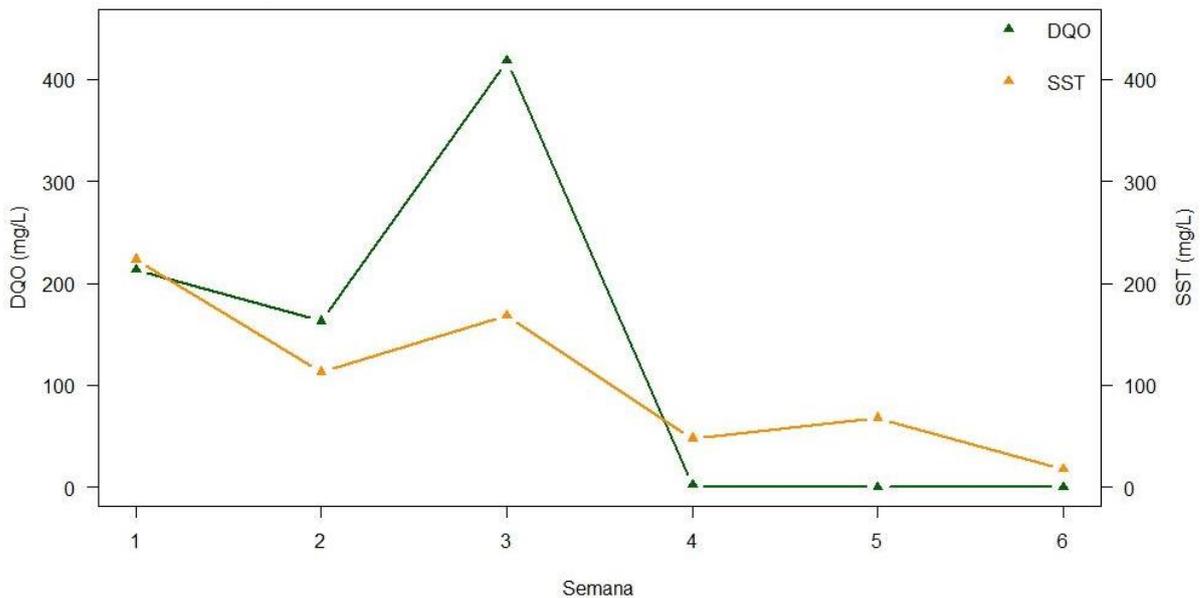
No caso da ETE-UFLA, a detecção do SARS-CoV-2 também foi influenciada pela DQO e pelo fator externo de novos casos no município. Na Figura 12 é possível visualizar a oscilação da matéria orgânica da ETE – UFLA no período, bem como o aumento da variável na semana 3

Tabela 5.1 - Detecção do gene N na semana de amostra. ETE - UFLA

	Gene N (Cye5)
Semana 3	35,88

Fonte: Do autor (2023).

Figura 12 – Valores referentes a variável DQO e SST da Estação de Tratamento de Esgoto UFLA a cada semana de análise.



Fonte: Do autor (2023).

6. CONCLUSÕES

- A WBE é uma alternativa viável para monitorar a dinâmica de vírus em comunidades.
- A WBE é uma importante ferramenta do ponto de vista sanitário-ambiental e em termos de saúde pública.
- O material genético do SARS-CoV-2 foi encontrado em todas as amostras no período avaliado.
- Mais estudos acerca da correlação do material genético e as características físicas e químicas de águas residuárias se faz necessária.

7. REFERÊNCIAS

- ABDULJAUWAD, Sahel N.; HABIB, Taimur; AHMED, Habib-ur-Rehman. Nano-clays as Potential Pseudo-antibodies for COVID-19. **Nanoscale research letters**, v. 15, n. 1, p. 1-12, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s11671-020-03403-z>
- ABREU, Mariana Aparecida de Freitas et al. Study of the sewage from a municipality in southern Minas Gerais, Brazil: correlation of physical and chemical variables, COVID-19 cases, and SARS-CoV-2 RNA concentration. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 27, p. 967-974, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-415220220006>
- AHMED, Warish *et al.* 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 the Total Environment**, v. 728, p. 138764, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>
- AHMED, Warish et al. Minimizing errors in RT-PCR detection and quantification of SARS-CoV-2 RNA for wastewater surveillance. **Science of the Total Environment**, v. 805, p. 149877, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149877>
- AIEWSAKUN, Pakorn; SIMMONDS, Peter. The genomic underpinnings of eukaryotic virus taxonomy: creating a sequence-based framework for family-level virus classification. **Microbiome**, v. 6, n. 1, p. 1-24, 2018. DOI: <https://doi.org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1186/s40168-018-0422-7>
- AMEGBOR, Prince M.; ADDAE, Angelina. Spatiotemporal analysis of the effect of global development indicators on child mortality. **International Journal of Health Geographics**, v. 22, n. 1, p. 1-15, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12942-023-00330-x>
- AMIN, Nuhu et al. Dependency of sanitation infrastructure on the discharge of faecal coliform and SARS-CoV-2 viral RNA in wastewater from COVID and non-COVID hospitals in Dhaka, Bangladesh. **Science of The Total Environment**, p. 161424, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161424>
- ANA. Agência Nacional de Águas. **Panorama do saneamento no Brasil**, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/assuntos/saneamento-basico/a-ana-e-o-saneamento/panorama-do-saneamento-no-brasil-1>. Acesso em: 15 mai. 2023.
- ANSER, Muhammad Khalid et al. Does communicable diseases (including COVID-19) may increase global poverty risk? A cloud on the horizon. **Environmental Research**, v. 187, p. 109668, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109668>
- ARORA, Sudipti et al. Imprints of lockdown and treatment processes on the wastewater surveillance of SARS-CoV-2: a curious case of fourteen plants in northern India. **Water**, v. 13, n. 16, p. 2265, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/w13162265>
- ASSELAH, Tarik et al. COVID-19: Discovery, diagnostics and drug development. **Journal of hepatology**, v. 74, n. 1, p. 168-184, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.09.031>
- ATOUI, Ali et al. SARS-CoV-2 in the environment: Contamination routes, detection methods, persistence and removal in wastewater treatment plants. **Science of The**

Total Environment, v. 881, p. 163453, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163453>

BAI, Zhihua et al. The SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and its role in viral structure, biological functions, and a potential target for drug or vaccine mitigation. **Viruses**, v. 13, n. 6, p. 1115, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13061115>

BARCELLOS, Demian S. et al. How has the COVID-19 pandemic impacted wastewater-based epidemiology?. **Science of The Total Environment**, p. 164561, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164561>

BENVENUTO, Domenico et al. The 2019-new coronavirus epidemic: evidence for virus evolution. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 4, p. 455-459, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.25688>

BHATTACHARYA, Prosun et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in communities through wastewater surveillance—a potential approach for estimation of disease burden. **Current pollution reports**, v. 7, p. 160-166, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40726-021-00178-4>

BIVINS, Aaron et al. Persistence of SARS-CoV-2 in water and wastewater. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 7, n. 12, p. 937-942, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00730>

BLINKOVA, O. et al. Frequent detection of highly diverse variants of cardiovirus, cosavirus, bocavirus, and circovirus in sewage samples collected in the United States. **Journal of clinical microbiology**, v. 47, n. 11, p. 3507-3513, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.01062-09>

BOGIEL, Tomasz; RZEPKA, Mateusz; DEPKA, Dagmara. Reliable Diagnostics of SARS-CoV-2 Infections Using One-and Two-Gene Molecular Tests for a Viral RNA Detection—Results Questioning Previous Observations. **Diagnostics**, v. 11, n. 10, p. 1839, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics11101839>

BOUFFANAIS, Roland; LIM, Sun Sun. Cities—try to predict superspreading hotspots for COVID-19. **Nature**, v. 583, n. 7816, p. 352-355, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/d41586-020-02072-3>

BOYD, Ellen et al. Hands off the Mink! Using Environmental Sampling for SARS-CoV-2 Surveillance in American Mink. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 2, p. 1248, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph20021248>

BRASIL. **Lei nº11.445, de 5 de janeiro de 2007**. Estabelece as diretrizes nacionais para o saneamento básico; cria o Comitê Interministerial de Saneamento Básico; altera as Leis nos 6.766, de 19 de dezembro de 1979, 8.666, de 21 de junho de 1993, e 8.987, de 13 de fevereiro de 1995; e revoga a Lei nº 6.528, de 11 de maio de 1978. Brasília, DF: Presidência da República, [2007]. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm. Acesso em: 15 mai. 2023.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento (SNS). Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS). **Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto**: Gestão Técnica de Esgoto ano

de referência 2020. Brasília, DF: Ministério do Desenvolvimento Regional: SNS, ago. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/mdr/pt-br/assuntos/saneamento/snis/produtos-do-snis/diagnosticos/diagnosticos_snis. Acesso em: 17 mai. 2023.

BRASIL. Planalto. **Lei nº 14.026, de 15 de julho de 2020**. Atualiza o marco legal do saneamento básico e altera a Lei nº 9.984, de 17 de julho de 2000, para atribuir à Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) competência para editar normas de referência sobre o serviço de saneamento, a Lei nº 10.768, de 19 de novembro de 2003, para alterar o nome e as atribuições do cargo de Especialista em Recursos Hídricos, a Lei nº 11.107, de 6 de abril de 2005, para vedar a prestação por contrato de programa dos serviços públicos de que trata o art. 175 da Constituição Federal, a Lei nº 11.445, de 5 de janeiro de 2007, para aprimorar as condições estruturais do saneamento básico no País, a Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010, para tratar dos prazos para a disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos, a Lei nº 13.089, de 12 de janeiro de 2015 (Estatuto da Metrópole), para estender seu âmbito de aplicação às microrregiões, e a Lei nº 13.529, de 4 de dezembro de 2017, para autorizar a União a participar de fundo com a finalidade exclusiva de financiar serviços técnicos especializados. Brasília, DF: Presidência da República, [2020]. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2019-2022/2020/lei/L14026.htm. Acesso em: 15 mai. 2023.

CAI, Yongfei, et al. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. **Science**, v. 369, n. 6511 p. 1586-1592, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abd4251>

CÂMARA, Alice Barros et al. Detecting SARS-CoV-2 in sludge samples: a systematic review. **Science of The Total Environment**, v. 859, p. 160012, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160012>

CASANOVA, Lisa et al. Survival of surrogate coronaviruses in water. **Water research**, v. 43, n. 7, p. 1893-1898, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.02.002>

CASTRO-GUTIERREZ, Victor et al. Monitoring occurrence of SARS-CoV-2 in school populations: A wastewater-based approach. **Plos one**, v. 17, n. 6, p. e0270168, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270168>

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **CDC 2019 - Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel**. Estados Unidos: CDC, 2021. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/134922/download>. Acesso em: 5 mar. 2022.

CERRADA-ROMERO, Cristina et al. Excretion and viability of SARS-CoV-2 in feces and its association with the clinical outcome of COVID-19. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 7397, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11439-7>

CEVIK, Muge et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. **The lancet microbe**, v. 2, n. 1, p. e13-e22, 2021. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30172-5](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30172-5)

CHANG, C. K. et al. The SARS coronavirus nucleocapsid protein—forms and functions. **Antiviral research**, v. 103, p. 39-50, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.12.009>

CHAN-YEUNG, Moira; XU, Rui-Heng. SARS: epidemiology. *Respirology* 8: S9–S14. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1843.2003.00518.x>

CHIN, Alex WH et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. **The Lancet Microbe**, v. 1, n. 1, p. e10, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30003-3)

CORMAN, Victor M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, v. 25, n. 3, p. 2000045, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

CORMAN, Victor M. et al. Hosts and sources of endemic human coronaviruses. **Advances in virus research**, v. 100, p. 163-188, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.01.001>

CUI, Jie; LI, Fang; SHI, Zheng-Li. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature reviews microbiology**, v. 17, n. 3, p. 181-192, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>

D'AOUST, Patrick M. et al. Quantitative analysis of SARS-CoV-2 RNA from wastewater solids in communities with low COVID-19 incidence and prevalence. **Water research**, v. 188, p. 116560, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116560>

DAUGHTON, Christian G. Wastewater surveillance for population-wide Covid-19: The present and future. **Science of the Total Environment**, v. 736, p. 139631, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139631>

DAUGHTON, Christian. The international imperative to rapidly and inexpensively monitor community-wide Covid-19 infection status and trends. **The Science of the total environment**, v. 726, p. 138149, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138149>

DE FREITAS BUENO, Rodrigo et al. Wastewater-based epidemiology: A Brazilian SARS-CoV-2 surveillance experience. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 5, p. 108298, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108298>

DE OLIVEIRA, Leonardo Camilo et al. Viability of SARS-CoV-2 in river water and wastewater at different temperatures and solids content. **Water research**, v. 195, p. 117002, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117002>

DE PAIVA BRITTO, Ana Lucia Nogueira et al. Da fragmentação à articulação. A política nacional de saneamento e seu legado histórico. **Revista Brasileira de Estudos Urbanos e Regionais (RBEUR)**, v. 14, n. 1, p. 65-83, 2012.

DEDEPSIDIS, Evaggelos et al. Retrospective characterization of a vaccine-derived poliovirus type 1 isolate from sewage in Greece. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 21, p. 6697-6704, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00535-07>

DIP, Sourav Dutta et al. Evaluation of RT-PCR assays for detection of SARS-CoV-2 variants of concern. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2342, 2023. DOI: <https://doi.org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1038/s41598-023-28275-y>

DONOGHUE, Mary et al. A novel angiotensin-converting enzyme–related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. **Circulation research**, v. 87, n. 5, p. e1-e9, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.RES.87.5.e1>

DROSTEN, Christian et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. **New England journal of medicine**, v. 348, n. 20, p. 1967-1976, 2003. DOI: 10.1056/NEJMoa030747

ESPINOSA, Maria Fernanda et al. Reduction and liquid-solid partitioning of SARS-CoV-2 and adenovirus throughout the different stages of a pilot-scale wastewater treatment plant. **Water Research**, v. 212, p. 118069, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118069>

FIALHO, D. E. S. **Caracterização do esgoto sanitário e avaliação da eficiência da ETE/UFLA na remoção de fármacos e desreguladores endócrinos**. 2019. Dissertação (Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias e Inovações Ambientais.) - Universidade de Federal de Lavras, Lavras, 2019.

FIELDS, Bernard N. **Fields' virology**. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

FOLADORI, Paola et al. Coronaviruses and SARS-CoV-2 in sewerage and their removal: Step by step in wastewater treatment plants. **Environmental research**, v. 207, p. 112204, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112204>

FONGARO, Gislaine et al. SARS-CoV-2 in human sewage and river water from a remote and vulnerable area as a surveillance tool in Brazil. **Food and Environmental Virology**, v. 14, n. 4, p. 417-420, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12560-021-09487-9>

FONGARO, Gislaine et al. The presence of SARS-CoV-2 RNA in human sewage in Santa Catarina, Brazil, November 2019. **Science of The Total Environment**, v. 778, p. 146198, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146198>

FORNI, Diego et al. Molecular evolution of human coronavirus genomes. **Trends in microbiology**, v. 25, n. 1, p. 35-48, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.001>

GIACOBBO, Alexandre et al. A critical review on SARS-CoV-2 infectivity in water and wastewater. What do we know?. **Science of the Total Environment**, v. 774, p. 145721, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145721>

GÖTZINGER, Florian et al. COVID-19 em crianças e adolescentes na Europa: um estudo de coorte multinacional e multicêntrico. **The Lancet Child & Adolescent Health**, v. 4, n. 9, p. 653-661, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(20\)30177-2](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(20)30177-2)

GRAHAM, R. L.; BARIC, R. S. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission. **Journal of virology**, v. 84, n. 7, p. 3134-3146, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.01394-09>

GRUBE, Alyssa M. et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and comparison to COVID-19 cases in two sewersheds, North Carolina, USA. **Science of The Total Environment**, v. 858, p. 159996, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159996>

GUNDY, Patricia M.; GERBA, Charles P.; PEPPER, Ian L. Survival of coronaviruses in water and wastewater. **Food and Environmental Virology**, v. 1, p. 10-14, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12560-008-9001-6>

GWENZI, Willis. Leaving no stone unturned in light of the COVID-19 faecal-oral hypothesis? A water, sanitation and hygiene (WASH) perspective targeting low-income countries. **Science of the Total Environment**, v. 753, p. 141751, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141751>

HADFIELD, James et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. **Bioinformatics**, v. 34, n. 23, p. 4121-4123, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty407>

HELLER, L. et al. **Saneamento como política: um olhar a partir dos desafios do SUS**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2018.

HELLER, L. Relação entre saúde e saneamento na perspectiva do desenvolvimento. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 3, n. 2, p. 73-84, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-81231998000200007>

HELLER, Léo. Relationship between health and environmental sanitation in view of the development. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 3, n. 2, p. 73, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-81231998000200007>

HOFMANN, Heike, et al. Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 22, p. 7988-7993, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0409465102>

HOLSHUE, Michelle L. et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *New England journal of medicine*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191>

ISLAM, Md Aminul et al. A 30-day follow-up study on the prevalence of SARS-COV-2 genetic markers in wastewater from the residence of COVID-19 patient and comparison with clinical positivity. **Science of The Total Environment**, v. 858, p. 159350, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159350>

ISLAM, Md Aminul et al. An opinion on Wastewater-Based Epidemiological Monitoring (WBEM) with Clinical Diagnostic Test (CDT) for detecting high-prevalence areas of community COVID-19 Infections. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 31, p. 100396, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2022.100396>

JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. **Tratamento de esgotos domésticos**. Rio de Janeiro: ABES, n. 4, 2011, 969 p.

JØRGENSEN, Alissa Carina Udi et al. Eurofins Covid-19 Sentinel™ Wastewater Test Provide Early Warning of a potential COVID-19 outbreak. **MedRxiv**, p. 2020.07.10.20150573, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.07.10.20150573>

JOUKAR, Farahnaz et al. Persistence of SARS-CoV-2 RNA in the nasopharyngeal, blood, urine, and stool samples of patients with COVID-19: a hospital-based longitudinal study. **Virology journal**, v. 18, n. 1, p. 1-9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01599-9>

KARTHIKEYAN, Smruthi et al. Wastewater sequencing reveals early cryptic SARS-CoV-2 variant transmission. **Nature**, v. 609, n. 7925, p. 101-108, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05049-6>

KIN, Nathalie et al. Genomic analysis of 15 human coronaviruses OC43 (HCoV-OC43s) circulating in France from 2001 to 2013 reveals a high intra-specific diversity with new recombinant genotypes. **Viruses**, v. 7, n. 5, p. 2358-2377, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/v7052358>

KING, Andrew MQ et al. Virus taxonomy. **Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier, San Diego, USA; v. 9. 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Bradley-Hillman/publication/257958528_Family_Reoviridae/links/5e8f21ae92851c2f528d60e5/Family-Reoviridae.pdf. Acesso em: 26 mai. 2023

KITAJIMA, Masaaki et al. SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. **Science of The Total Environment**, v. 739, p. 139076, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076>

KOCAMEMI, Bilge Alpaslan et al. SARS-CoV-2 detection in Istanbul wastewater treatment plant sludges. **MedRxiv**, p. 2020.05. 12.20099358, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.05.12.20099358>

KUMBLATHAN, Teresa et al. An efficient method to enhance recovery and detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater. **Journal of Environmental Sciences**, v. 130, p. 139-148, 2023. DOI: <https://doi.org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.jes.2022.10.006>

LA ROSA, Giuseppina et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. **Science of the total environment**, v. 736, p. 139652, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139652>

LACHASSINNE, Eric et al. SARS-CoV-2 transmission among children and staff in daycare centres during a nationwide lockdown in France: a cross-sectional, multicentre, seroprevalence study. **The Lancet Child & Adolescent Health**, v. 5, n. 4, p. 256-264, 2021. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(21\)00024-9](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(21)00024-9)

LAI, Foon Yin et al. Liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for screening in vitro drug metabolites in humans: investigation on seven phenethylamine-based designer drugs. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 114, p. 355-375, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.06.016>

LAI, Michael MC; CAVANAGH, David. The molecular biology of coronaviruses. **Advances in virus research**, v. 48, p. 1-100, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(08\)60286-9](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(08)60286-9)

LATINNE, Alice et al. Origin and cross-species transmission of bat coronaviruses in China. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 4235, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17687-3>

LEUNG, Nancy HL et al. Respiratory virus shedding in exhaled breath and efficacy of face masks. **Nature medicine**, v. 26, n. 5, p. 676-680, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0843-2>

LU, Roujian et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **The lancet**, v. 395, n. 10224, p. 565-574, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)

LUO, Lingling et al. SARS-CoV-2 nucleocapsid protein phase separates with G3BPs to disassemble stress granules and facilitate viral production. **Science bulletin**, v. 66, n. 12, p. 1194-1204, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scib.2021.01.013>

MAJUMDER, Abhradeep et al. A review on hospital wastewater treatment: A special emphasis on occurrence and removal of pharmaceutically active compounds, resistant microorganisms, and SARS-CoV-2. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, p. 104812, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104812>

MANOR, Y. et al. Detection of poliovirus circulation by environmental surveillance in the absence of clinical cases in Israel and the Palestinian authority. **Journal of clinical microbiology**, v. 37, n. 6, p. 1670-1675, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.37.6.1670-1675.1999>

MARQUES, E. et al. Application of the polymerase chain reaction (PCR) to poliomyelitis surveillance through the analyses of sewage samples. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 9, p. 566-569, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00386295>

MASACHESSI, Gisela et al. Wastewater based epidemiology as a silent sentinel of the trend of SARS-CoV-2 circulation in the community in central Argentina. **Water Research**, v. 219, p. 118541, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118541>

MASSA, Kaio Henrique Correa; CHIAVEGATTO FILHO, Alexandre Dias Porto. Basic sanitation and self-reported health in Brazilian capitals: a multilevel analysis. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 23, 2020. DOI: 10.1590/1980-549720200050

MASTERS, Paul S. The molecular biology of coronaviruses. **Advances in virus research**, v. 66, p. 193-292, 2006. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(06\)66005-3](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(06)66005-3)

MASTERS, Paul S.; STURMAN, Lawrence S. Background paper functions of the coronavirus nucleocapsid protein. **Coronaviruses and their Diseases**, p. 235-238, 1990. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5823-7_32

MATOS, A. T.; MATOS, M. P. **Disposição de Águas Residuárias no Solo e em Sistemas Alagados Construídos**. Viçosa: n. 6, Editora UFV, 2017, 371 p.

MEDEMA, Gertjan et al. 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**, v. 7, n. 7, p. 511-516, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>

MIAGOSTOVICH, Marize Pereira et al. Gastroenteric viruses detection in a drinking water distribution-to-consumption system in a low-income community in Rio de Janeiro. **Food and environmental virology**, v. 12, p. 130-136, 2020. DOI: <https://doi.org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s12560-020-09423-3>

MILLET, J.K.; WHITTAKER, G.R. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. **Virus research**, v.16, n. 202, p. 120-34, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.11.021>

MOHAMADIAN, Malihe et al. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. **The journal of gene medicine**, v. 23, n. 2, p. e3303, 2021. DOI: <https://doi.org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1002/jgm.3303>

MONTEIRO, Silvia et al. Discrimination and surveillance of infectious severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 in wastewater using cell culture and RT-qPCR. **Science of the Total Environment**, v. 815, p. 152914, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.152914>

MOTA, Cesar R. et al. Assessing spatial distribution of COVID-19 prevalence in Brazil using decentralised sewage monitoring. **Water Research**, v. 202, p. 117388, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117388>

MOURA, Ines B.; BUCKLEY, Anthony M.; WILCOX, Mark H. Can SARS-CoV-2 be transmitted via faeces?. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 38, n. 1, p. 26, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000794>

MOUSAVIZADEH, Leila; GHASEMI, Sorayya. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 54, n. 2, p. 159-163, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022>

MOUSAZADEH, Milad et al. Wastewater based epidemiology perspective as a faster protocol for detecting coronavirus RNA in human populations: A review with specific reference to SARS-CoV-2 virus. **Pathogens**, v. 10, n. 8, p. 1008, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10081008>

NABI, Ghulam; SIDDIQUE, Rabeea; KHAN, Suliman. Detecting viral outbreaks in future using enhanced environmental surveillance. **Environmental research**, v. 188, p. 109731, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109731>

NAGY, Peter D.; SIMON, Anne E. New insights into the mechanisms of RNA recombination. **Virology**, v. 235, n. 1, p. 1-9, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8681>

NAKAGAWA, Keisuke; LOKUGAMAGE, K. G.; MAKINO, Shinji. Viral and cellular mRNA translation in coronavirus-infected cells. **Advances in virus research**, v. 96, p. 165-192, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.001>

NANNOU, Christina et al. Antiviral drugs in aquatic environment and wastewater treatment plants: a review on occurrence, fate, removal and ecotoxicity. **Science of the Total Environment**, v. 699, p. 134322, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134322>

NAQVI, Ahmad Abu Turab et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 10, p. 165878, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878>

NEUMAN, Benjamin W. et al. Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *Journal of virology*, v. 80, n. 16, p. 7918-7928, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00645-06>

NUGAWELA, Manjula D. et al. Developing a model for predicting impairing physical symptoms in children 3 months after a SARS-CoV-2 PCR-test: the CLoCk Study. **Medrxiv**, p. 2022.04.01.22273117, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1101/2022.04.01.22273117>

OLIVEIRA, M. L. De et al. Effects of fertigation with raw sewage on the vegetative development of maize and beans. **International journal of recycling organic waste in agriculture**, v. 11, n. 4, p. 437-450, 2022. DOI: <https://doi.org/10.30486/ijrowa.2021.1926171.1219>

PAN, Pan et al. SARS-CoV-2 N protein enhances the anti-apoptotic activity of MCL-1 to promote viral replication. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 1, p. 1-15, 2023. DOI: <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1038/s41392-023-01459-8>

PANDEY, Deepshikha et al. SARS-CoV-2 in wastewater: challenges for developing countries. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 231, p. 113634, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113634>

PARRA-ARROYO, Lizeth et al. Degradation of viral RNA in wastewater complex matrix models and other standards for wastewater-based epidemiology: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, p. 116890, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116890>

PASINI, Fernando; DAMKE, Taiara. A importância da potabilidade da água no saneamento básico para a promoção da saúde pública no Brasil. **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 13, n. 1, p. 8-15, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21727/teccen.v13i1.2200>

PECCIA, Jordan et al. Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics. **Nature biotechnology**, v. 38, n. 10, p. 1164-1167, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0684-z>

PECSON, Brian M. et al. Reproducibility and sensitivity of 36 methods to quantify the SARS-CoV-2 genetic signal in raw wastewater: findings from an interlaboratory methods evaluation in the US. **Environmental science: water research & technology**, v. 7, n. 3, p. 504-520, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0EW00946F>

PENG, Tsui-Yi; LEE, Kuan-Rong; TARN, Woan-Yuh. Phosphorylation of the arginine/serine dipeptide-rich motif of the severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein modulates its multimerization, translation inhibitory activity and cellular localization. **The FEBS journal**, v. 275, n. 16, p. 4152-4163, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06564.x>

PENG, Ya et al. Structures of the SARS-CoV-2 nucleocapsid and their perspectives for drug design. **The EMBO journal**, v. 39, n. 20, p. e105938, 2020. DOI: <https://doi.org/10.15252/embj.2020105938>

PENNINGER, Josef M.; GRANT, Maria B.; SUNG, Joseph JY. The role of angiotensin converting enzyme 2 in modulating gut microbiota, intestinal inflammation, and coronavirus infection. **Gastroenterology**, v. 160, n. 1, p. 39-46, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.07.067>

PETALA, M. et al. A physicochemical model for rationalizing SARS-CoV-2 concentration in sewage. Case study: The city of Thessaloniki in Greece. **Science of the Total Environment**, v. 755, p. 142855, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142855>

PETERSON, A. Townsend. Defining viral species: making taxonomy useful. **Virology journal**, v. 11, p. 1-4, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-131>

PRADO, Tatiana et al. Wastewater-based epidemiology as a useful tool to track SARS-CoV-2 and support public health policies at municipal level in Brazil. **Water research**, v. 191, p. 116810, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116810>

PRADO, Tatiana; MIAGOSTOVICH, Marize Pereira. Environmental virology and sanitation in Brazil: a narrative review. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1367-1378, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-311X00109213>

PREFEITURA DE LAVRAS. **Boletins Epidemiológicos COVID-19**. Lavras: Prefeitura de Lavras, 2021. Disponível em: Disponível em: Disponível em: <https://www.lavras.mg.gov.br/covid-all/5>. Acesso em: 14 jun. 2023.

PRÜSS-USTÜN, Annette et al. Burden of disease from inadequate water, sanitation and hygiene for selected adverse health outcomes: an updated analysis with a focus on low-and middle-income countries. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 222, n. 5, p. 765-777, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.004>

R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

RAI, Praveen et al. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 105, p. 441-455, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-11061-5>

RANDAZZO, Walter et al. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. **Water research**, v. 181, p. 115942, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942>

REN, Yujie et al. Dual inhibition of innate immunity and apoptosis by human cytomegalovirus protein UL37x1 enables efficient virus replication. **Nature Microbiology**, v. 7, n. 7, p. 1041-1053, 2022. DOI:

ROLLEMBERG, Silvio; DE BARROS, Amanda Nascimento; DE LIMA, João Pedro Machado. Avaliação da contaminação, sobrevivência e remoção do coronavírus em sistemas de tratamento de esgoto sanitário. **Revista Tecnologia**, v. 41, n. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5020/23180730.2020.10849>

- SANJUÁN, Rafael; DOMINGO-CALAP, Pilar. Mechanisms of viral mutation. **Cellular and molecular life sciences**, v. 73, p. 4433-4448, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2299-6>
- SHELLER, C., Krebs, F., Minkner, R., Astner, I., Gil-Moles, M., & Wätzig, H. Physicochemical properties of SARS-CoV-2 for drug targeting, virus inactivation and attenuation, vaccine formulation and quality control. **Electrophoresis**, v. 41(13-14), p. 1137-1151, 2020. <https://doi.org/10.1002/elps.202000121>
- SETHURAMAN, Nandini; JEREMIAH, Sundararaj Stanleyraj; RYO, Akihide. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. **Jama**, v. 323, n. 22, p. 2249-2251, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>
- SHERCHAN, Samendra et al. Survival of SARS-CoV-2 in wastewater. **Science of The Total Environment**, p. 163049, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163049>
- SHERCHAN, Samendra P. et al. First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: a study in Louisiana, USA. **Science of The Total Environment**, v. 743, p. 140621, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140621>
- SILVA, Felipe da Costa da et al. Correlation between basic sanitation and vulnerability to the covid-19 pandemic in Brazil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 28, p. e20220145, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-415220220145>
- SIMMONDS, Peter et al. Virus taxonomy in the age of metagenomics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 3, p. 161-168, 2017. DOI: <https://doi.org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1038/nrmicro.2016.177>
- SIMMONDS, Peter. Methods for virus classification and the challenge of incorporating metagenomic sequence data. **Journal of General Virology**, v. 96, n. 6, p. 1193-1206, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000016>
- SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO. Diagnóstico dos serviços de água e esgoto, 2022. Disponível em: http://appsnis.mdr.gov.br/indicadores/web/agua_esgoto/mapa-esgoto/. Acesso em: 05 jun. 2023.
- SOLA, Isabel et al. Role of nucleotides immediately flanking the transcription-regulating sequence core in coronavirus subgenomic mRNA synthesis. **Journal of virology**, v. 79, n. 4, p. 2506-2516, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.79.4.2506-2516.2005>
- STEHLÉ, Juliette et al. High-resolution measurements of face-to-face contact patterns in a primary school. **PloS one**, v. 6, n. 8, p. e23176, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023176>
- SU, Shuo et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. **Trends in microbiology**, v. 24, n. 6, p. 490-502, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
- TAN, Wenjie et al. A novel coronavirus genome identified in a cluster of pneumonia cases—Wuhan, China 2019– 2020. **China CDC weekly**, v. 2, n. 4, p. 61-62, 2020. DOI: <https://doi.orr/10.46234/ccdcw2020.017>

TANG, A. N. et al. Detection of novel coronavirus by RT-PCR in stool specimen from asymptomatic child, China. **Emerging infectious diseases**, v. 26, n. 6, p. 1337, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2606.200301>

TANG, Yi-Wei et al. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. **Journal of clinical microbiology**, v. 58, n. 6, p. e00512-20, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.00512-20>

TANGWANGVIVAT, Ratanaporn et al. SARS-CoV-2 Variants Detection Strategies in Wastewater Samples Collected in the Bangkok Metropolitan Region. **Viruses**, v. 15, n. 4, p. 876, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15040876>

The new scope of virus taxonomy: partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks. **Nature Microbiology**, v. 5, n. 5, p. 668-674, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0709-x>

THOMPSON, Janelle R. et al. Making waves: wastewater surveillance of SARS-CoV-2 for population-based health management. **Water research**, v. 184, p. 116181, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116181>

TONG, Suxiang et al. Detection of novel SARS-like and other coronaviruses in bats from Kenya. **Emerging infectious diseases**, v. 15, n. 3, p. 482, 2009. DOI: 10.3201/eid1503.081013

TOPTAN, Tuna et al. Optimized qRT-PCR approach for the detection of intra-and extra-cellular SARS-CoV-2 RNAs. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 12, p. 4396, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21124396>

TORABI, Soroosh et al. Stabilization of SARS-CoV-2 RNA in wastewater via rapid RNA extraction. **Science of The Total Environment**, v. 878, p. 162992, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162992>

TYRRELL, D. A. J.; COHEN, Sheldon; SCHILARB, J. E. Signs and symptoms in common colds. **Epidemiology & Infection**, v. 111, n. 1, p. 143-156, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268800056764>

V'KOVSKI, Philip et al. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 155-170, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>

VAN DER HOEK, Lia et al. Identification of a new human coronavirus. **Nature medicine**, v. 10, n. 4, p. 368-373, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm1024>

VAN DOORN, Amarylle S. et al. Systematic review with meta-analysis: SARS-CoV-2 stool testing and the potential for faecal-oral transmission. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 52, n. 8, p. 1276-1288, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/apt.16036>

VAN NUIJS, Alexander LN et al. Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 395, p. 819-828, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3017-0>

VAN NUIJS, Alexander LN et al. Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 395, p. 819-828, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3017-0>

VARBANOV, M. et al. Somatic coliphages are conservative indicators of SARS-CoV-2 inactivation during heat and alkaline pH treatments. **Science of the Total Environment**, v. 797, p. 149112, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149112>

VOGELS, Chantal BF et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT–qPCR primer–probe sets. **Nature microbiology**, v. 5, n. 10, p. 1299-1305, 2020. DOI: <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1038/s41564-020-0761-6>

VON SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos**. Belo Horizonte: v.1, n. 4, Editora UFMG, 2017, 472 p.

WALLS, Alexandra C. et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 281-292. e6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>

WANG, Wenling et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. **Jama**, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786>

WANG, Xin-Wei et al. Study on the resistance of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. **Journal of virological methods**, v. 126, n. 1-2, p. 171-177, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.02.005>

WANG, Yan et al. Modular characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein domain functions in nucleocapsid-like assembly. **Molecular Biomedicine**, v. 4, n. 1, p. 16, 2023. DOI: <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1186/s43556-023-00129-z>

WEIDHAAS, Jennifer et al. Correlation of SARS-CoV-2 RNA in wastewater with COVID-19 disease burden in sewersheds. **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145790, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145790>

WEISS, S.R., Leibowitz J.L. Coronavirus pathogenesis. **Advances in virus research**. 2011 Jan 1;81:85-164. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2>

WEISS, Susan R.; NAVAS-MARTIN, Sonia. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 69, n. 4, p. 635-664, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.69.4.635-664.2005>

WHO, **Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – United Arab Emirates**. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/21-september-2017-mers-uae-en>. Acesso em: 24 mai. 2023.

WHO, **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. 2023. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 26 mai. 2023.

WOO, Patrick CY et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. **Journal of virology**, v. 79, n. 2, p. 884-895, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.79.2.884-895.2005>

WOO, Patrick CY et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. **Journal of virology**, v. 86, n. 7, p. 3995-4008, 2012. DOI: 10.1128/JVI.06540-11

WU, Fan et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 265-269, 2020. DOI: <https://doi.org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1038/s41586-020-2008-3>

WU, Fan et al. Complete genome characterisation of a novel coronavirus associated with severe human respiratory disease in Wuhan, China. **BioRxiv**, p. 2020.01.24.919183, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.01.24.919183>

WU, Yongjian et al. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. **The lancet Gastroenterology & hepatology**, v. 5, n. 5, p. 434-435, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30083-2](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30083-2)

Wuhan Municipal Health Commission. Report of clustering pneumonia of unknown etiology in Wuhan City. Wuhan, China: Wuhan Municipal Health Commission, December 31, 2019. Disponível em: <http://wjw.wuhan.gov.cn/front/web/showDetail/2019123108989>. Acesso em: 10 abril 2023

WURTZER, Sebastien et al. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. **MedRxiv**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>

XIA, Shuai, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. **Cell research**, v. 30, n. 4, p. 343-355, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x>

XIAO, Fei et al. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. **Gastroenterology**, v. 158, n. 6, p. 1831-1833. e3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>

XU, Yi et al. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. **Nature medicine**, v. 26, n. 4, p. 502-505, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0817-4>

YANO, K. Hygieiological problems and detection methods of viruses in water. **Eisei Kagaku**, v. 39, n. 5, p. 381-394, 1993. DOI: https://doi.org/10.1248/jhs1956.39.5_381

YEO, Charleen; KAUSHAL, Sanghvi; YEO, Danson. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal–oral transmission of SARS-CoV-2 possible?. **The lancet Gastroenterology & hepatology**, v. 5, n. 4, p. 335-337, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30048-0](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30048-0)

YOU, Jaehwan et al. Subcellular localization of the severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein. **Journal of general virology**, v. 86, n. 12, p. 3303-3310, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.81076-0>

ZAHMATKESH, Sasan; AMESHO, Kassian TT; SILLANPÄÄ, Mika. A critical review on diverse technologies for advanced wastewater treatment during SARS-CoV-2 pandemic: what do we know?. **Journal of Hazardous Materials Advances**, p. 100121, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100121>

ZHAI, Xiaofeng, et al. Comparison of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 spike protein binding to ACE2 receptors from human, pets, farm animals, and putative intermediate hosts. **Journal of virology**, v. 94, n. 15, p. e00831-20, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.00831-20>

ZHANG, Yong et al. Isolation of 2019-nCoV from a stool specimen of a laboratory-confirmed case of the coronavirus disease 2019 (COVID-19). **China CDC Weekly**, v. 2, n. 8, p. 123-124, 2020. DOI: <https://doi.org/10.46234/ccdcw2020.033>

ZHAO, Gang et al. M and N proteins of SARS coronavirus induce apoptosis in HPF cells. **Cell biology and toxicology**, v. 22, p. 313-322, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10565-006-0077-1>

ZHAO, Jie; CUI, Wei; TIAN, Bao-ping. The potential intermediate hosts for SARS-CoV-2. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 580137, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580137>

ZHENG, Shufa et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. **bmj**, v. 369, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1443>

ZHOU, Hong et al. A novel bat coronavirus closely related to SARS-CoV-2 contains natural insertions at the S1/S2 cleavage site of the spike protein. **Current biology**, v. 30, n. 11, p. 2196-2203. e3, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.05.023>

ZHOU, Hong et al. Identification of novel bat coronaviruses sheds light on the evolutionary origins of SARS-CoV-2 and related viruses. **Cell**, v. 184, n. 17, p. 4380-4391. e14, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.06.008>

ZHOU, Peng et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **nature**, v. 579, n. 7798, p. 270-273, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>

ZHU, Na et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England journal of medicine**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>

ZUCCATO, Ettore et al. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. **Environmental Health**, v. 4, p. 1-7, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-069X-4-14>

ZUCCATO, Ettore et al. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. **Environmental Health**, v. 4, p. 1-7, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-069X-4-14>

ZÚÑIGA, Sonia et al. Coronavirus nucleocapsid protein is an RNA chaperone. **Virology**, v. 357, n. 2, p. 215-227, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.07.046>