



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
COLEGIADO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

DANIELSAN DE JESUS DIAS
ISABELLA BALARINI DE AZEVEDO CHAIBEN

**DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 EM AMOSTRAS DE
ESGOTO DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO E
CANAIS SUPERFICIAIS NA REGIÃO METROPOLITANA DE
VITÓRIA – ES**

VITÓRIA

2022

DANIELSAN DE JESUS DIAS

ISABELLA BALARINI DE AZEVEDO CHAIBEN

**DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 EM AMOSTRAS DE
ESGOTO DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO E
CANAIS SUPERFICIAIS NA REGIÃO METROPOLITANA DE
VITÓRIA – ES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Engenheiro Ambiental.

Orientadora: Prof^a Dr^a Regina de Pinho Keller

VITÓRIA

2022

DANIELSAN DE JESUS DIAS
ISABELLA BALARINI DE AZEVEDO CHAIBEN

**DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 EM AMOSTRAS DE
ESGOTO DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO E
CANAIS SUPERFICIAIS NA REGIÃO METROPOLITANA DE
VITÓRIA – ES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Engenharia Ambiental do Centro
Tecnológico da Universidade Federal do
Espírito Santo, como requisito parcial
para obtenção do grau de Engenheiro
Ambiental.

Dr^a. Regina de Pinho Keller
Orientadora

Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini
Banca Examinadora

Dr^a. Liliana Cruz Spano
Banca Examinadora

VITÓRIA

2022

Agradecimentos

Primeiramente, agradecemos a Deus, que nos guiou até aqui.

Agradecemos às nossas famílias, sem o apoio de vocês, seria impossível concluir essa etapa das nossas vidas.

Agradecemos aos nossos amigos, especialmente aos nossos amigos da Engenharia Ambiental, que foram essenciais para tornar os nossos dias durante a graduação mais alegres e divertidos.

Agradecemos à nossa orientadora Regina de Pinho Keller, por todo suporte e orientação durante a realização do trabalho de conclusão de curso, pelo apoio emocional durante todas as vezes que pensamos em desistir.

Agradecemos à equipe do LABSAN, que nos deu todo o suporte técnico necessário para a execução do nosso trabalho, em especial, Gizelly Azevedo e Laila Vaz, que foram as melhores colaboradoras que poderíamos ter durante a nossa jornada.

Por fim, agradecemos à CAPES pelo suporte financeiro, que possibilitou a realização desta pesquisa.

Resumo

A detecção de SARS-CoV-2 em amostras ambientais contaminadas com fezes de indivíduos infectados pode servir para o monitoramento da circulação viral em dada comunidade e como potencial preditor de disseminação na população. O presente trabalho tem como objetivo a detecção do vírus SARS-CoV-2 em amostras de esgoto bruto coletadas na região metropolitana de Vitória – ES, por meio da técnica PCR em tempo real. Amostras de esgoto bruto foram coletadas em duas ETEs e em dois canais superficiais da região metropolitana de Vitória, durante o período de janeiro a dezembro de 2021. Realizou-se a caracterização do esgoto coletado a partir de análises físico-químicas e bacteriológicas. As características físico-químicas dessas águas se aproximam da classificação de esgoto doméstico. Os coliformes termotolerantes apresentam concentrações típicas de esgoto bruto, sendo os valores extremamente variáveis. Determinaram-se os níveis de contaminação dos esgotos por SARS-CoV-2 na região metropolitana de Vitória, obtendo um valor de 25,85% de positividade para o vírus. Apenas os parâmetros pH e coliformes termotolerantes apresentaram correlação com as variações de Ct's do SARS-CoV-2 nas amostras ambientais de um dos quatro pontos de coleta selecionados.

Palavras-chave: Águas residuárias. SARS-CoV-2. Parâmetros físico-químicos. Coliformes termotolerantes. PCR em tempo real.

Lista de Ilustrações

Figura 1 - Estrutura geral do SARS-CoV-2.	27
Figura 2 - Coleta das amostras.	34
Figura 3 - Amostras separadas para as análises físico-químicas e microbiológicas.	35
Figura 4 - (a) Meio de cultura m-FC; (b) Meio com a membrana filtrante; (c) Meio com crescimento bacteriano.....	39
Figura 5 - Fluxograma das principais etapas realizadas na análise de coliformes termotolerantes nas amostras de esgoto bruto.	40
Figura 6 - Mapa da área de estudo no município de Vila Velha - ES.....	45
Figura 7 - Mapa da área de estudo no município da Serra - ES.	45
Figura 8 - Monitoramento do pH nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	46
Figura 9 - Monitoramento do Oxigênio Dissolvido nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	47
Figura 10 - Monitoramento da Condutividade nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	48
Figura 11 - Monitoramento da Salinidade nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	49
Figura 12 - Monitoramento da Turbidez nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	50
Figura 13 - Monitoramento da Temperatura nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	51
Figura 14 - Monitoramento da Demanda Química de Oxigênio nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a julho de 2021.	52
Figura 15 - Monitoramento dos Sólidos Totais nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	53
Figura 16 - Monitoramento dos Sólidos Suspensos Totais nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	54
Figura 17 - Monitoramento dos Sólidos Dissolvidos Totais nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	55
Figura 18 - Monitoramento dos Coliformes Termotolerantes nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	56

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Resultados da estatística descritiva das análises de pH das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	46
Tabela 2 - Resultados da estatística descritiva das análises de oxigênio dissolvido (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	47
Tabela 3 - Resultados da estatística descritiva das análises de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	48
Tabela 4 - Resultados da estatística descritiva das análises de salinidade (PSU) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	49
Tabela 5 - Resultados da estatística descritiva das análises de turbidez (FNU) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	50
Tabela 6 - Resultados da estatística descritiva das análises de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	51
Tabela 7 - Resultados da estatística descritiva das análises de DQO (mgO_2/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	52
Tabela 8 - Resultados da estatística descritiva das análises de ST (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	53
Tabela 9 - Resultados da estatística descritiva das análises de SST (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	54
Tabela 10 - Resultados da estatística descritiva das análises de SDT (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	55

Tabela 11 - Resultados da estatística descritiva das análises de Coliformes Termotolerantes (UFC/100 mL) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.....	56
Tabela 12 - Resultados da detecção do SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto bruto, coletadas entre janeiro e dezembro de 2021, quando avaliados os genes N1 e N2.	57
Tabela 13 – Resultados das análises de esgoto bruto pela PCR em tempo real quando avaliados os genes N1 e N2, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.	58
Tabela 14 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico da ETE Araçás com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2. .	59
Tabela 15 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico da ETE Manguinhos com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.....	59
Tabela 16 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico do Canal da Costa com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.	59
Tabela 17 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico do Canal do Congo com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.....	60

Lista de Quadros

Quadro 1 – Principais parâmetros físicos dos esgotos domésticos.	18
Quadro 2 - Classificação do esgoto em forte, médio e fraco, de acordo com os parâmetros físico-químicos.	18
Quadro 3 - Características dos microrganismos presentes no esgoto.	19
Quadro 4 - Faixa de concentração dos parâmetros microbiológicos dos esgotos domésticos.	21
Quadro 5 - Parâmetros físico-químicos e seus respectivos métodos.....	36

Lista de abreviações e siglas

COT	Carbono Orgânico Total
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EBE	Epidemiologia Baseada no Esgoto
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FNU	Unidade Nefelométricas de Formazina
OD	Oxigênio Dissolvido
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PSU	Unidade de Salinidade Prática
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa
RT-PCR	Reação da Transcriptase Reversa seguida pela Reação em Cadeia da Polimerase
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
SST	Sólidos Suspensos Totais
ST	Sólidos Totais

Sumário

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	OBJETIVOS	13
1.1.1	Objetivo Geral.....	13
1.1.2	Objetivos Específicos	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	CENÁRIO DO ESGOTAMENTO SANITÁRIO NO BRASIL	14
2.2	ÁGUAS RESIDUÁRIAS	15
2.2.1	Propriedades físico-químicas dos esgotos domésticos	16
2.2.2	Microbiologia dos esgotos domésticos	19
2.3	VÍRUS EM AMBIENTES AQUÁTICOS	21
2.4	SARS-COV-2	26
2.4.1	Características do vírus SARS-CoV-2	26
2.5	VÍRUS SARS-CoV-2 NO ESGOTO	28
2.6	EPIDEMIOLOGIA BASEADA NO ESGOTO	29
3	MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1	SELEÇÃO DOS PONTOS DE COLETA	32
3.1.1	ETE Araçás	32
3.1.2	ETE Manguinhos	32
3.1.3	Canais da Costa	33
3.1.4	Canal do Congo.....	33
3.2	COLETA DAS AMOSTRAS DE ESGOTO	34
3.3	ANÁLISES LABORATORIAIS	35
3.3.1	Parâmetros físico-químicos	35
3.3.1.1	Determinação dos sólidos	36
3.3.1.2	Determinação da Demanda Química de Oxigênio	37
3.3.2	Parâmetros Microbiológicos	38
3.3.2.1	Coliformes Termotolerantes	38
3.3.2.2	Vírus SARS-CoV-2	41
3.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	42
4	RESULTADOS	44

4.1	DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO	44
4.2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	46
4.2.1	pH.....	46
4.2.2	Oxigênio Dissolvido	47
4.2.3	Condutividade.....	48
4.2.4	Salinidade.....	49
4.2.5	Turbidez.....	50
4.2.6	Temperatura	51
4.2.7	Demanda Química de Oxigênio.....	52
4.2.8	Sólidos Totais	53
4.2.9	Sólidos Suspensos Totais	54
4.2.10	Sólidos Dissolvidos Totais	55
4.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	55
4.3.1	Coliformes termotolerantes.....	56
4.3.2	Vírus SARS-CoV-2	57
4.4	CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E DO INDICADOR MICROBIOLÓGICO COM A PRESENÇA DO VÍRUS SARS-CoV-2	58
5	DISCUSSÃO	61
5.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BACTERIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE ESGOTO	61
5.2	DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 NAS AMOSTRAS DE ESGOTO	64
5.3	CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E DO INDICADOR MICROBIOLÓGICO COM A PRESENÇA DO VÍRUS SARS-COV-2 NO ESGOTO ..	64
6	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	66
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

1 INTRODUÇÃO

O SARS-CoV-2 é um novo tipo de coronavírus que pertence ao gênero *Betacoronavirus* (KHALIL, 2020). Esse vírus é capaz de infectar humanos e causar a síndrome respiratória aguda grave, doença comumente conhecida como COVID-19. A primeira detecção do vírus foi registrada no dia 31 de dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, na China (WHO, 2020).

Por causa de sua rápida disseminação, juntamente com o alto índice de fatalidade e com as infecções que são causadas no sistema respiratório, a doença se tornou um enorme problema de saúde mundial (WHO, 2020). A COVID-19 foi considerada como uma emergência de saúde em escala global pela Organização Mundial da Saúde no final de janeiro de 2020, tornando proporções pandêmicas em março do mesmo ano.

Apesar das principais formas de infecção serem através de gotículas respiratórias, contato próximo e fômites, a transmissão fecal-oral é considerada também uma potencial via de transmissão, uma vez que vários estudos confirmaram a presença do RNA SARS-CoV-2 nas fezes de pacientes infectados (CHEN et al., 2020; D'AOUST et al., 2021; LO et al., 2020). Entretanto, até a atualidade, não existem estudos que comprovem a rota fecal-oral como via de transmissão do SARS-CoV-2.

As fezes dos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 podem permanecer positivas para o vírus quando o trato respiratório já está negativo. Dito isto, a interação com o trato gastrointestinal levanta várias questões sobre as águas residuárias, portanto, a rota do SARS-CoV-2 das fezes para as estações de tratamento de esgoto deve ser analisada (FOLADORI et al., 2020).

A importância da realização de estudos para a detecção do vírus SARS-CoV-2 em águas residuárias se deve à possibilidade do fornecimento de estimativas em nível populacional da carga do vírus. Esses dados podem ajudar na tomada de decisões em torno do avanço ou redução das medidas de distanciamento social e quarentena com base nas estimativas de prevalência.

Além disso, a coleta de águas residuárias nos municípios pode permitir a detecção de SARS-CoV-2 em cidades com menor carga da doença, funcionando como um sistema de alerta precoce para ajudar a adotar medidas preventivas de saúde pública antes do início generalizado da doença.

Entretanto, para que resultados obtidos através do monitoramento do RNA do SARS-CoV-2 no esgoto reflitam sobre o real estado de saúde de uma comunidade, é importante que diversos fatores sejam considerados, tais como: a concentração do RNA viral excretado nas fezes, tamanho da população, técnicas de amostragem e características das águas residuárias.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Detectar o vírus SARS-CoV-2 em amostras de esgoto de estações de tratamento de esgoto e canais superficiais na região metropolitana de Vitória – ES.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o esgoto coletado em ETEs e canais da região metropolitana de Vitória, por meio de análises físico-químicas e bacteriológicas.
- Utilizar a técnica de PCR em tempo real para detectar o vírus SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto bruto.
- Correlacionar os parâmetros físico-químicos e os coliformes termotolerantes com a presença do vírus SARS-CoV-2 no esgoto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CENÁRIO DO ESGOTAMENTO SANITÁRIO NO BRASIL

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a definição de saneamento baseia-se na seguinte formulação: “o saneamento constitui o controle de todos os fatores do meio físico do homem, que exercem ou podem exercer efeitos deletérios sobre seu estado de bem-estar físico, mental ou social”.

A Lei Nacional nº 11.445, de 5 de janeiro de 2007, é a principal lei que estabelece o saneamento básico no território brasileiro, determinando as diretrizes para a política nacional de saneamento básico. Segundo ela, existem quatro esferas do saneamento básico, sendo caracterizadas como o abastecimento de água potável, o esgotamento sanitário, a limpeza urbana e gestão de resíduos sólidos e, por fim, o conjunto de drenagem e gestão de águas pluviais.

Conforme a legislação da Política Nacional de Saneamento Básico (BRASIL, 2007), a definição de esgotamento sanitário é dada por um grupo de atividades compostas por meio de infraestrutura, através de etapas de coleta, transporte, tratamento e disposição final dos esgotos sanitários, das ligações prediais e da disposição final no meio ambiente.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas caracteriza os Sistemas de Esgotamento Sanitário por meio da NBR 9648 – Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário - Procedimento (1986). Tal norma prevê o lançamento no estado líquido formado pelo esgoto industrial e doméstico e água de infiltração.

O Brasil está entre os dez países com maior economia do mundo, sendo classificado como um país emergente, porém quando se trata de saneamento básico, ele ocupa a 112ª posição. Portanto, é perceptível que não há um equilíbrio entre os serviços de saneamento e a realidade de um país com destaque global.

Segundo a Agência Nacional de Águas (ANA, 2017), 43% da população brasileira possui esgoto coletado e tratado e 12% utilizam-se de fossa séptica, considerada uma solução individual, totalizando 55% da população com tratamento considerado adequado. Além disso, 18% da população têm seu esgoto coletado, porém não tratado, o que pode ser considerado como um atendimento precário, e 27% não possuem nenhum tipo de coleta nem de tratamento, ou seja, não possuem atendimento por parte do serviço de coleta sanitária.

A ausência ou inadequação do saneamento, juntamente com as atividades antropogênicas que alteram o meio ambiente, podem levar a um aumento na incidência de doenças e a uma redução na expectativa de vida (LANDAU; MOURA, 2016).

Em certos locais, fica evidente a associação entre a proliferação de algumas doenças e a falta de saneamento, visto que os serviços de saneamento básico exercem um papel importante no controle da transmissão de inúmeros agentes patogênicos de veiculação hídrica (PRADO; MIAGOSTOVICH, 2014), tendo como exemplo os vírus causadores de hepatites e gastroenterites.

2.2 ÁGUAS RESIDUÁRIAS

As águas residuárias são aquelas que têm sua qualidade alterada pela presença de contaminantes e substâncias que são utilizadas em qualquer tipo de processo, seja ele industrial, doméstico, com fins agropecuários, dentre outros.

Segundo a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2022), as águas residuárias são todo o tipo de água descartada, que pode ser oriunda de inúmeros processos.

Em uma cidade, as águas residuárias com contribuição para estações de tratamento de esgoto são provenientes de três fontes distintas: esgotos domésticos, águas de infiltração e despejos industriais (VON SPERLING, 1998).

Segundo Von Sperling (1998), classificação das águas residuárias se dá pela sua origem, podendo ser:

1. Domésticas: utilizadas para fins higiênicos, provenientes de residências e prédios;
2. Industriais: águas provenientes de indústrias, fábricas e polos industriais;
3. Agrícolas: águas resultantes da irrigação realizada na agricultura;
4. Pluviais: águas resultantes do escoamento superficial;
5. Infiltração e vazões adicionais: águas oriundas do volume de água que é infiltrada pelo subsolo e das águas das chuvas.

A principal característica dos esgotos é a função dos usos à qual a água foi submetida (VON SPERLING, 1998), que varia com o clima, condições socioeconômicas e costumes populacionais.

O esgoto doméstico tem em sua composição 99,9% de água e 0,1% de sólidos e microrganismos. Na sua caracterização qualitativa, os parâmetros podem ser divididos em físicos, químicos e biológicos.

2.2.1 Propriedades físico-químicas dos esgotos domésticos

Os principais parâmetros químicos relacionados à esgotos predominantemente domésticos são os sólidos, indicadores de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio.

Os sólidos presentes nos esgotos são classificados de acordo com seu tamanho e estado (sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos), suas características químicas (sólidos voláteis e sólidos fixos) e sua decantabilidade (sólidos em suspensão sedimentáveis e sólidos em suspensão não sedimentáveis).

Uma das características principais dos esgotos é a matéria orgânica presente no mesmo, sendo ela a causadora do principal problema de poluição das águas, que são os microrganismos consumindo oxigênio dissolvido nos seus processos metabólicos de utilização (VON SPERLING, 1998).

A matéria orgânica presente no esgoto pode ser classificada pela sua forma e tamanho, sendo ela em suspensão ou dissolvida. Ela também pode ser classificada quanto à sua biodegradabilidade, podendo ser inerte ou biodegradável.

Para a determinação da matéria orgânica, podem ser utilizados métodos diretos, que consistem na medição do carbono orgânico total (COT), ou métodos indiretos, que consistem na medição do consumo de oxigênio. Os métodos indiretos são: demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda última de oxigênio (DBOu) e demanda química de oxigênio (DQO).

O fósforo presente na água é encontrado nas seguintes formas: ortofosfatos, polifosfatos e fósforo orgânico. Sua importância se dá ao fato de que o fósforo é um nutriente importante para o crescimento dos microrganismos responsáveis por estabilizar a matéria orgânica. Além disso, o fósforo, juntamente com o nitrogênio, é um componente essencial para o crescimento de algas, podendo conduzir o processo de eutrofização.

Um dos elementos indispensáveis para o crescimento de microrganismos responsáveis pelo tratamento de esgotos é o nitrogênio. O processo de nitrificação, que pode ocorrer em uma estação de tratamento de esgoto, implica no consumo de oxigênio e alcalinidade. Já o processo de desnitrificação implica na economia de oxigênio e de alcalinidade ou na deterioração da decantabilidade do lodo, dependendo se for realizado de forma controlada ou não.

No ciclo do nitrogênio, o elemento alterna entre várias formas e estados de oxidação, resultante de inúmeros processos bioquímicos (VON SPERLING, 1998). As formas que o nitrogênio é encontrado no meio aquático são: nitrogênio molecular (N_2), nitrogênio orgânico (dissolvido e em suspensão), amônia livre (NH_3), amônia ionizada (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), sendo que nos esgotos domésticos brutos, as formas predominantes são a amônia e o nitrogênio orgânico.

Os principais parâmetros físicos dos esgotos domésticos são: temperatura, cor, odor e turbidez. O Quadro 1 apresenta uma breve descrição desses parâmetros.

Quadro 1 – Principais parâmetros físicos dos esgotos domésticos.

Parâmetro	Descrição
Temperatura	<ul style="list-style-type: none"> - Superior à da água utilizada para abastecimento. - A variação pode ocorrer de acordo com as estações do ano. - Influencia na atividade microbiana, na solubilidade dos gases e na viscosidade do líquido.
Cor	<ul style="list-style-type: none"> - Levemente cinza para o esgoto fresco. - Cinza escuro ao preto para o esgoto séptico.
Odor	<ul style="list-style-type: none"> - Odor oleoso e relativamente desagradável para o esgoto fresco. - Odor fétido (devido ao H₂S) para o esgoto séptico.
Turbidez	Causada por uma grande variedade de sólidos suspensos.

Fonte: Adaptado de (VON SPERLING, 1998).

Segundo Metcalf & Eddy (1991), o esgoto sanitário pode ser classificado de acordo com sua força, podendo ser forte, médio ou fraco. Essa classificação está relacionada com a concentração de sólidos, matéria orgânica, nitrogênio e fósforo presentes nos esgotos. O Quadro 2 apresenta essa classificação, de acordo com os parâmetros físico-químicos apresentados.

Quadro 2 - Classificação do esgoto em forte, médio e fraco, de acordo com os parâmetros físico-químicos.

Parâmetro	Forte	Médio	Fraco
Sólidos Totais (mg/L)	1200	720	350
Sólidos Dissolvidos Totais (mg/L)	850	500	250
Sólidos Dissolvidos Fixos (mg/L)	850	500	250

Parâmetro	Forte	Médio	Fraco
Sólidos Dissolvidos Voláteis (mg/L)	525	300	145
Sólidos em Suspensão Totais (mg/L)	350	220	100
Sólidos em Suspensão Fixos (mg/L)	75	55	20
Sólidos em Suspensão Voláteis (mg/L)	275	165	80
Sólidos Sedimentáveis (mg/L)	20	10	05
DBO _{5,20} (mg/L)	400	220	110
DQO (mg/L)	1000	500	250
Carbono Orgânico Total (mg/L)	290	160	80
Nitrogênio total – NTK (mgN/L)	85	40	20
Nitrogênio Orgânico (mgN/L)	35	15	08
Nitrogênio Amoniacal (mg NH ₃ -N/L)	50	25	12
Fósforo Total (mgP/L)	15	08	04
Fósforo Orgânico (mgP/L)	05	03	01
Fósforo Inorgânico (mgP/L)	10	05	03

Fonte: Adaptado de (METCALF & EDDY, 1991).

2.2.2 Microbiologia dos esgotos domésticos

Os principais microrganismos presentes no esgoto são bactérias, fungos, protozoários, helmintos e vírus, sendo que suas características estão presentes no quadro 3.

Quadro 3 - Características dos microrganismos presentes no esgoto.

Parâmetros	Descrição
Bactérias	- Organismos protistas unicelulares. - Apresentam várias formas e tamanhos.

Parâmetros	Descrição
	- Principais responsáveis pela estabilização da matéria orgânica.
Fungos	- Organismos aeróbios, multicelulares, não fotossintéticos, heterotróficos. - Importantes na decomposição da matéria orgânica. - Podem crescer em condição de baixo pH.
Protozoários	- Organismos unicelulares e sem parede celular. - A maioria é aeróbia ou facultativa. - São essenciais no tratamento biológico para a manutenção de um equilíbrio entre os diversos grupos.
Helmintos	Ovos de helmintos presentes nos esgotos podem causar doenças.
Vírus	- Organismos parasitas, formados pela associação de material genético (DNA ou RNA) e uma carapaça proteica. - Organismos causadores de doenças. - Podem ser de difícil remoção no tratamento da água ou esgoto.

Fonte: Adaptado de (VON SPERLING, 1998).

A detecção de agentes patogênicos, como bactérias, protozoários e vírus, em amostras de água é dificultada, devido à baixa concentração dos mesmos. Segundo Von Sperling (1998), as razões para isso se devem ao fato de que apenas uma faixa da população apresenta doenças de veiculação hídrica e a presença de patógenos nas fezes dessa população pode não ter uma proporção elevada. Além disso, ainda há grandes chances de diluição do despejo contaminado, após o mesmo ser lançado no sistema de esgoto.

Dada tal dificuldade, fizeram-se necessários estudos dos organismos indicadores de contaminação fecal (VON SPERLING, 1998), visto que, esses organismos não são patógenos, mas conseguem indicar quando uma água apresenta contaminação por fezes, além de conseguir avaliar a potencialidade na transmissão de doenças. Os organismos mais utilizados para tal finalidade são as bactérias do grupo coliformes, sendo os comumente utilizados os coliformes totais, coliformes termotolerantes e estreptococos fecais.

Os coliformes totais são um grande grupo de bactérias que podem ser isoladas em amostras de água, solo contaminado e não contaminado e fezes. Os coliformes

termotolerantes são um grupo de bactérias indicadoras de organismos que são originados no intestino humano e de outros animais. Um outro tipo de contaminação fecal, os estreptococos fecais, incluem várias espécies de estreptococos e, assim como os coliformes termotolerantes, são encontrados nos intestinos de humanos e de outros animais. (VON SPERLING, 1998).

O quadro 4 apresenta as faixas de concentração dos microrganismos encontrados no esgoto doméstico.

Quadro 4 - Faixa de concentração dos parâmetros microbiológicos dos esgotos domésticos.

Microrganismos	Concentração (org/100 mL)
Coliformes totais	$10^6 - 10^9$
Coliformes termotolerantes	$10^5 - 10^8$
Estreptococos fecais	$10^5 - 10^6$
Cistos de protozoários	$< 10^3$
Ovos de helmintos	$< 10^3$
Vírus	$10^2 - 10^4$

Fonte: Adaptado de (VON SPERLING, 1998).

2.3 VÍRUS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

Na década de 1950, após a ocorrência de um surto de hepatite em Nova Délhi, na Índia, como consequência de uma contaminação por patógenos virais provenientes do esgoto em um sistema de tratamento de água, iniciou-se a pesquisa de vírus na água. A partir desse episódio, os estudos na área da virologia ambiental se iniciaram, com diversos cientistas empenhando-se na detecção do poliovírus em amostras de água (BOSCH, 1998).

A virologia ambiental abrange um campo extenso de pesquisa. Ela possui conexões com recursos hídricos, saneamento, vigilância sanitária e epidemiológica e gerenciamento costeiro (MACHADO, 2012).

Existem diversas pesquisas relacionadas aos vírus entéricos e de disseminação entérica no ambiente. Esses tipos de vírus podem pertencer a diversas famílias e gêneros e estão relacionados a vários tipos de doenças infecciosas. Eles estão presentes no trato gastrointestinal humano e são transmitidos de forma fecal-oral, causando infecções. Em relação à morfologia desses vírus, eles são não envelopados, de simetria icosaédrica e são bem resistentes as condições desfavoráveis do meio ambiente (BOSCH et al., 2008).

A detecção de vírus em amostras ambientais é extremamente complexa, devido à enorme variedade das amostras e pelo fato de não existir um único método padronizado que seja adequado para todo tipo de água (MACHADO, 2012). Em ambientes aquáticos, a detecção de vírus é recomendada como base para a vigilância epidemiológica das infecções virais.

Com relação às análises virológicas da água, a concentração é a primeira etapa realizada e tem como objetivo a recuperação e concentração do maior número possível de partículas virais e, até mesmo, a retenção do material genético suspenso (SILVA et al., 2011). Ela é uma etapa muito importante e crítica, pois o número de partículas virais em água pode ser relativamente baixo, necessitando de um grande volume para a concentração (SOULE et al., 2000; CHEN et al., 2006). Dessa forma, a utilização de um método de concentração eficiente é muito importante para identificação molecular dos patógenos presentes nas amostras analisadas.

Existem diversas metodologias para concentração de vírus em matrizes aquáticas e a escolha na melhor metodologia depende de diversos fatores, como por exemplo, a amostra a ser analisada, o vírus a ser isolado e os recursos que o laboratório dispõe.

Segundo Wyn-Jones e Sellwood (2001), para um método de concentração viral ser considerado adequado, ele deve cumprir algumas exigências, sendo elas:

1. Ser de fácil e rápida conclusão;
2. Ter um alto índice de recuperação viral;
3. Concentrar uma grande variedade de vírus;
4. Promover um volume de concentrado pequeno;

5. Ter um custo acessível;
6. Ser capaz de analisar grandes volumes de amostra;
7. Ser repetitivo e reproduzível.

Alguns exemplos de metodologias utilizadas para a etapa de concentração são: ultrafiltração, separação magnética, ultracentrifugação, adsorção viral utilizando partículas de sílica amino-fracionalizadas, floculação orgânica, floculação inorgânica, precipitação com polietilenoglicol e utilização de membranas de microfiltração simples ou em cartuchos, sendo elas polarizadas negativamente ou positivamente.

Dos métodos que foram citados acima, os mais comumente utilizados são a adsorção-eluição em membrana de microfiltração, a ultrafiltração e a ultracentrifugação, podendo ocorrer combinações entre eles e com os outros métodos já citados (SILVA et al., 2010).

Com relação a microfiltração, as membranas utilizadas para esse procedimento possuem entre 0,2 e 0,45 μm de porosidade e seu material pode ser de membrana de vidro, celulose, nitrocelulose ou nylon. Essas membranas podem ser simples, sendo uma única membrana, ou composta, estando dispostas em cartuchos de filtração, porém nesse segundo caso é utilizado um grande volume de água, por isso, é mais indicado para análises virológicas. Quanto à polaridade da membrana, elas podem ser neutras ou estarem polarizadas positivamente ou negativamente (SILVA et al., 2011).

A ultrafiltração tem como metodologia a filtração em ultramembranas, onde os ácidos nucleicos e proteínas são retidas. As membranas utilizadas nesse método possuem poros que retêm massas moleculares na ordem de 10 mil a 100 mil KDa. Segundo Silva et al. (2011), a ultrafiltração geralmente é utilizada associada com a microfiltração.

Um outro método citado anteriormente é a ultracentrifugação. Nele, as amostras são centrifugadas com velocidade superior a 100.000 x g e os vírus são precipitados. Uma vantagem dessa metodologia é a utilização das amostras in natura (SILVA et al., 2011), porém em amostras onde a concentração viral é baixa, como rios e lagos,

tal metodologia se torna limitada, visto que ultracentrífugas não são capazes de fazer o processamento de volumes grandes de água. Já para as amostras de esgoto, onde temos uma maior concentração de patógenos, esse método é considerado eficiente para detecção viral (ALBINANA-GIMENEZ et al. 2006; MYRMEL et al. 2006). Entretanto, apesar desse método em si ter um baixo custo e ser prático, a ultracentrífuga tem custos elevados de aquisição e manutenção.

No estudo realizado por Ahmed et al. (2015), os autores compararam três métodos concentração de vírus em amostras de esgoto, sendo eles: a extração direta de ácido nucleico de uma membrana carregada negativamente (Método A); um protocolo baseado em adsorção/eluição com uma membrana carregada negativamente (Método B) e um protocolo baseado em adsorção/eluição modificado com uma membrana carregada negativamente (Método C). A eficiência de recuperação dos vírus para o Método A foi de 31 a 78%, enquanto para o método B e C foram de 2,4 a 12%, respectivamente.

Há vários tipos de métodos para a identificação de vírus em ambientes aquáticos. Eles podem ser baseados na detecção molecular ou na capacidade de replicação ou não dos vírus em culturas celulares (WYN-JONES; SELLWOOD, 2001).

Desde a década de 1990, as culturas celulares são utilizadas para o isolamento de vírus na água. Tal metodologia tem como desvantagem o alto custo, além de ser trabalhosa e ter a necessidade de uma segunda metodologia em conjunto para a realização da identificação do vírus específico (SILVA et al., 2011). Entretanto, é um método bastante sensível com relação a detecção de partículas virais infecciosas.

Já as técnicas moleculares, como por exemplo a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), têm uma alta sensibilidade e especificidade e uma detecção rápida de patógenos virais nas amostras ambientais (RIGOTTO et al., 2005). Contudo, a utilização dessa técnica em amostras aquáticas se torna limitado por causa da presença de inibidores da polimerase (SILVA et al., 2011).

Com a existência de tal problemática, surgiu a necessidade do desenvolvimento de novos métodos, dentre eles a Nested-PCR, que utiliza um segundo par de

indicadores flanqueando uma região já amplificada pela primeira PCR. Essa técnica assegura uma detecção específica, incrementa a reação e elimina os falsos negativos (RIGOTTO et al., 2005).

Uma outra limitação da utilização da PCR é a dificuldade da indicação da infecciosidade viral (SCHVOERER et al., 2001), porém em ensaios de RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa) é possível realizar essa análise com a detecção de cópias de mRNA, que são obtidas pela replicação viral em cultura celular (GREENING et al., 2002).

Dentre os métodos moleculares que são utilizados para detecção viral, também se tem a PCR quantitativa em tempo real (qPCR). Essa técnica consiste na variação da PCR, porém com a utilização de compostos fluorescentes que, amplifica, quantifica e analisa a expressão gênica simultaneamente. Para a detecção de vírus em ambientes aquáticos por qPCR, os compostos fluorescentes mais utilizados são o SYBR Green e a TaqMan (SILVA et al., 2011).

Em resumo, o método mais utilizado na detecção de ácidos nucleicos virais em amostras ambientais é a PCR e suas variações, apesar da existência de outras técnicas também serem utilizadas, como, por exemplo, a amplificação de ácidos nucleicos baseada em sequência, conhecida pela sigla em inglês como NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) (SILVA et al., 2011). O método NASBA é utilizado na amplificação do RNA de outras cópias de RNA ou DNA em temperatura única.

Com a realização de métodos moleculares em amostras ambientais para a detecção de vírus, houve um aumento dos estudos relacionados à contaminação de vírus em água, solos e alimentos. Portanto, ao longo dos anos, os profissionais de saúde pública e os virologistas têm estudado a disseminação de doenças virais, visto que esse problema tem implicações de longo alcance (MEHNERT, 2001).

2.4 SARS-COV-2

Em dezembro de 2019, foram notificados os primeiros casos da infecção causada pelo agente etiológico da COVID-19, denominado como SARS-CoV-2, na cidade de Wuhan, na China (WHO, 2020). Desde então, a rápida disseminação do vírus causou uma pandemia global, tendo como consequência crises nos sistemas de saúde pública ao redor do mundo (ABAKUR et al. 2020).

Após as primeiras notificações do SARS-CoV-2, no decorrer da pandemia COVID-19, foram identificadas novas variantes, que também são responsáveis por contribuir para surtos da COVID-19, aumentando as preocupações de saúde pública (LI et al., 2022).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, similar a outros vírus, o SARS-CoV-2 sofre mutações ao longo do tempo, sendo que, em maioria essas mutações apresentam pouco ou nenhum impacto, entretanto, algumas alterações podem aumentar os níveis de transmissibilidade, ocasionar quadros mais graves da doença, maior resistência às vacinas ou medicamento e dificuldade de detecção através dos métodos convencionais.

Até julho de 2022, foram reportados cerca de 570 milhões de casos confirmados, e 6,4 milhões de óbitos também causados pela COVID-19 no mundo (WHO, 2022). No Brasil, a infecção causada pelo SARS-CoV-2 também ocasionou impactos em grande escala. O país possui o terceiro maior número de casos confirmados, cerca de 33,6 milhões, e em relação ao número de óbitos, até julho de 2022, foram reportadas aproximadamente 677 mil mortes (WHO, 2022).

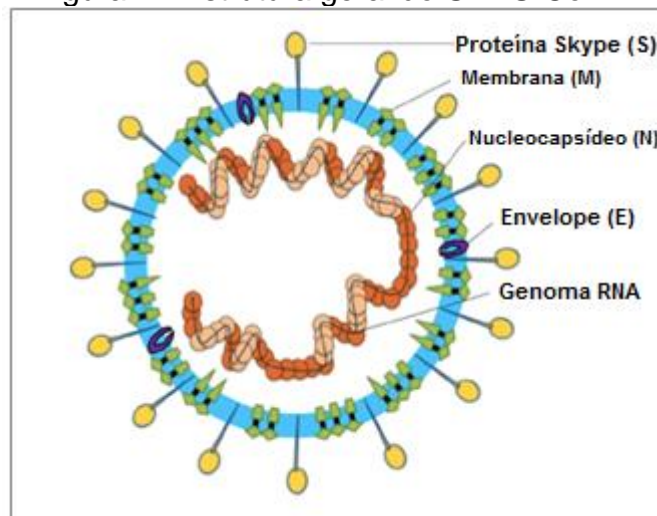
2.4.1 Características do vírus SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um vírus da família *Coronaviridae*, composta por vírus envelopados, com RNA de fita simples sentido positivo (+ssRNA), que possuem os maiores genomas conhecidos atualmente, cerca de 26 a 36 quilobases (LI et al., 2020).

Os coronavírus (CoVs), podem ser classificados por gênero, são eles: alpha, beta, gama e delta, sendo que, apenas 7 membros dos gêneros α -COVs (HCoV-229E e HCoV-NL63) e β -CoVs (HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2) foram identificados por infectar seres humanos (FARAG et al., 2021).

Estruturalmente, o SARS-CoV-2 é formado por quatro proteínas estruturais: a proteína Spike (S), responsável pela adsorção e entrada do vírus na célula, Envelope (E), que realiza o processo de brotamento do vírus, Membrana (M), responsável pela etapa de morfogênese e Nucleocapsídeo (N), esta proteína realiza o empacotamento do genoma viral. Além disso, o SARS-CoV-2 possui 16 proteínas não-estruturais e acessórias (MISHRA et al., 2022). Na figura 1 é apresentada a estrutura geral do agente etiológico da COVID-19.

Figura 1 - Estrutura geral do SARS-CoV-2.



Fonte: Adaptado de (LI et al., 2020).

Desde os primeiros casos, notificados em dezembro de 2019, o SARS-CoV-2 foi classificado principalmente como patógeno respiratório, entretanto, cada vez mais são observados os sintomas extrapulmonares também causados pelo vírus (SINGH et al., 2022). De acordo com Wang et al. (2022), além dos efeitos pulmonares, o SARS-CoV-2 também afeta o sistema gastrointestinal. Em indivíduos infectados, os sintomas mais comuns são anorexia, náusea, vômito, dores abdominais e principalmente diarreia.

A ocorrência de sintomas gastrointestinais em indivíduos infectados apontou a possibilidade da transmissão fecal-oral. Dada a confirmação da excreção do RNA do SARS-CoV-2 nas fezes humanas, diversos profissionais da vigilância ambiental buscaram compreender as consequências da presença do SARS-CoV-2 nas águas residuárias (ELSAMADONY et al., 2021).

2.5 VÍRUS SARS-COV-2 NO ESGOTO

Nas últimas décadas, os vírus têm sido pouco estudados em amostras ambientais, devido à dificuldade de sua detecção, mas com pandemia causada pelo SARS-CoV-2, eles ganharam destaque e vários estudos estão sendo realizados, a fim de detectar o vírus em tais amostras.

Dentre as metodologias disponíveis para detecção viral, os métodos de concentração descritos por Ahmed et al. (2015) e a técnica de PCR em tempo real, processo já estabelecido e muito utilizado para identificar sequenciamentos já conhecidos e com custo mais acessível (AHMED et al., 2020; RANDAZZO et al., 2020), são os mais utilizados para a detecção do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto.

A presença de SARS-CoV-2 em amostras ambientais foi inicialmente demonstrada em amostras de esgoto de seis cidades e em um aeroporto na Holanda, utilizando ensaios de qRT-PCR (MEDEMA et al., 2020). Na Austrália, foi encontrado RNA do SARS-CoV-2 em uma bacia hidrográfica e as cópias de RNA viral foram quantificadas com a utilização da técnica de qRT-PCR (AHMED et al., 2020). Também foi detectado SARS-CoV-2 em águas residuárias na Itália (LA ROSA et al., 2020), com a utilização de um ensaio de PCR aninhado específico para SARS-CoV-2 e na Espanha (RANDAZZO et al., 2020), com a utilização de ensaios qRT-PCR.

Em estações de tratamento de águas residuárias em Barcelona, na Espanha, foi confirmada a presença do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto coletadas em março de 2019, antes de qualquer relato de caso de COVID-19 no mundo, através de ensaios de RT-qPCR (CHAVARRIA-MIRÓ et al., 2020).

Mesmo em casos de baixa prevalência de COVID-19, a detecção do RNA do SARS-CoV-2 em águas residuárias e a correlação entre a concentração viral no esgoto e a prevalência de COVID-19 relatada, mostram que é de suma importância que haja uma vigilância no esgoto, com a utilização de ferramentas sensíveis para o monitoramento da circulação do vírus na população (MEDEMA, et al., 2020).

2.6 EPIDEMIOLOGIA BASEADA NO ESGOTO

A Epidemiologia Baseada no Esgoto (EBE) tem sido considerada uma abordagem eficaz para a vigilância da saúde pública, através do monitoramento de biomarcadores, que podem evidenciar o consumo de drogas ilícitas e/ou alerta precoce de doenças infecciosas em uma comunidade (MAO et al., 2021).

Segundo Sims et al. (2020), por meio dos processos de extração, detecção e análise de substâncias químicas e/ou biológicas, também conhecidas como biomarcadores, que são encontradas em alimentos ou excreções humanas, a EBE pode ser utilizada para fornecer informações relevantes sobre a saúde de comunidades.

Monteiro et al. (2022) consideram que a utilização da EBE possui diversas vantagens, tais como: a possibilidade de testagem em massa de milhares de potenciais indivíduos infectados, identificação prévia de pontos de infecção e tendências de propagação do vírus em pessoas pré-sintomáticas, pós-sintomáticas e assintomáticas.

Em 2003, a EBE foi definida como uma estratégia eficaz para o monitoramento da circulação do agente etiológico da poliomielite, o poliovírus, pela Organização Mundial Saúde, principalmente em regiões urbanas onde os dados da vigilância epidemiológica do poliovírus eram duvidosos ou inexistentes, ou havia o potencial risco de recirculação do vírus.

Recentemente, diversos pesquisadores têm explorado a EBE para o monitoramento do agente etiológico da COVID-19. De acordo com Masachessi et al. (2022), a EBE é uma abordagem capaz de fornecer informações sobre o surgimento e/ou vigilância

da circulação novas variantes, alerta precoce de novos surtos pandêmicos e monitoramento do SARS-CoV-2, podendo fornecer dados úteis para tomada de medidas de saúde pública em comunidades.

Além disso, através do monitoramento da concentração do RNA do SARS-CoV-2 em águas residuárias, a EBE pode ser utilizada para estimar o número de indivíduos infectados pelo novo coronavírus, abrangendo casos sintomáticos, assintomáticos e não reportados (SCHMITZ et al., 2021).

Entretanto, as características das águas residuárias devem ser consideradas em estudos de aplicação da EBE para o monitoramento do SARS-CoV-2, tais fatores podem influenciar nos resultados obtidos pelo uso desta abordagem. No esgoto, o aumento da carga viral pode ser indicativo para o surgimento de surtos de doenças e maior demanda de serviços de saúde pública, porém as águas residuárias possuem diversos agentes inibidores, tais como: sais, ureia, etanol, fenóis, que podem prejudicar a quantificação da carga viral (GONÇALVES et al., 2022).

Ainda segundo estes autores, mesmo com o processo natural de diluição do esgoto, em regiões urbanas é possível obter dados sobre uma população através de amostras ambientais, como as águas residuárias, porém devem ser considerados fatores climáticos, tais como contribuições pluviais, que aumentam a diluição das partículas virais.

Em estudo realizado com amostras ambientais de duas etapas do sistema de coleta e tratamento de esgoto, foi avaliada a correlação da concentração dos genes N1, N2 e N3 do SARS-CoV-2 com parâmetros das águas residuárias, foi observado que com o aumento do pH houve a redução da disponibilidade do gene N1, em contraste, não foi identificada relação entre o pH e os genes N2 e N3 (HONG et al., 2021).

Lu et.al (2022) aplicaram o modelo Spearman's, que considera valores significantes abaixo $p < 0.1$, para correlacionar os parâmetros turbidez, pH e sólidos suspensos totais com as concentrações dos genes N1, N2 e E do SARS-CoV-2 presentes em amostras ambientais, os resultados mostraram maior relação entre o gene E com os

parâmetros pH e sólidos suspensos totais, e associação entre N1 com os parâmetros turbidez e sólidos suspensos totais, para todos os parâmetros avaliados não foram encontrados resultados significativos para o gene N2.

De acordo com Bertels et al. (2022), a EBE pode ser empregada como medida complementar a vigilância do SARS-CoV-2, mas, devido à variedade de fatores que podem influenciar nas concentrações do RNA do vírus no esgoto, invalidando os valores epidemiológicos, devem ser realizados mais estudos sobre a aplicação da EBE para COVID-19.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 SELEÇÃO DOS PONTOS DE COLETA

Para a seleção dos pontos de coleta das amostras, foram consideradas duas Estações de Tratamento de Esgoto, localizadas na região metropolitana de Vitória-ES. Entretanto, como os serviços de esgotamento sanitário não atendem 100% da população da região metropolitana, existem ligações irregulares nas redes pluviais e falta adesão às redes coletoras de esgoto por parte da população, foi selecionado dois canais, localizados na área de estudo, que recebem águas residuárias sem tratamento.

3.1.1 ETE Araçás

De acordo com o Plano Municipal de Saneamento Básico de Vila Velha (2014), a ETE Araçás opera pelo sistema de lodos ativados e possui as unidades componentes: grades grossas e mecanizadas, caixa de areia, rosca transportadora, reator biológico aerado, digestor de polímeros, centrífuga, sopradores ultravioleta e sistema de inibição de odores.

Ainda segundo o Plano Municipal de Saneamento Básico de Vila Velha (2014), a ETE tem capacidade nominal de 400 L/s, recebe águas residuárias de 51 bairros, classificado como o maior o sistema de esgotamento sanitário do município de Vila Velha, com cerca de 325 mil metros de condutos.

3.1.2 ETE Manguinhos

Segundo o Plano Municipal de Saneamento Básico da Serra (2016), a ETE Manguinhos opera pelo sistema de lodos ativados com aeração escalonada, e possui as seguintes unidades componentes: medidor de vazão eletromagnético, gradeamento, desarenador, removedor de gorduras, caixa de partição de vazões, tanque de aeração, decantador lamelar e sistema de tratamento de sólidos com flotação e centrífuga.

A ETE Manguinhos tem capacidade nominal de 110 L/s, e atende parcialmente a população de Manguinhos, Cidade Continental, Bicanga, Lagoa Carapebus e o Arquipélago de Manguinhos, que totalizam aproximadamente cerca de 65 mil metros de redes coletoras de esgoto (PMSB-Serra, 2016).

3.1.3 Canais da Costa

O Canal da Costa, trecho do antigo Rio da Costa, foi retificado em 1950 com objetivo de facilitar o escoamento das águas servidas das áreas entre o centro de Vila Velha e litoral para a baía de Vitória (FILHO e FERREIRA, 2019).

Segundo Passamani (2016), o Canal da Costa possui cerca de 9,8 km² de drenagem que, em maioria, encontra-se localizado na área urbana do município de Vila Velha, e tem aproximadamente 6,10 km de extensão. Ele pertence a bacia hidrográfica do Canal Costa, que possui como afluentes os canais Bigossi e Capixaba. Os bairros abrangidos pelo canal são: Boa Vista II, Centro de Vila Velha, Coqueiral de Itaparica, Cristóvão Colombo, Divino Espírito Santo, Ilha dos Ayres, Itapuã, Praia da Costa e Praia da Itaparica.

Devido ao aumento populacional no município de Vila Velha, principalmente no entorno do Canal da Costa, este passou por diversas modificações ao longo do tempo. Segundo Sartório (2018), existem diversos pontos de descarte inadequado de resíduos e lançamento de esgoto das residências ao entorno, que acarretaram na completa desnaturalização e descaracterização do canal.

3.1.4 Canal do Congo

De acordo com o Plano Municipal de Saneamento Básico de Vila Velha (2014), o Canal do Congo é um afluente do rio Jucu, que possui foz no bairro Barra do Jucu, em Vila Velha.

Este canal é pertencente a bacia hidrográfica do Rio do Congo, que possui aproximadamente 30,03 km² de área de drenagem, e tem como afluentes os córregos do Congo e Boca da Mata, que percorrem os bairros Barramares, Barra do Jucu, Terra Vermelha, Residencial Jabaeté, Morada da Barra, João Goulart e Riviera da Barra (SILVA, 2021; IJSN, 2009).

3.2 COLETA DAS AMOSTRAS DE ESGOTO

Durante os meses de janeiro a dezembro de 2021, no período matutino, foi coletado semanalmente 1,5 L de amostra simples em cada ponto de coleta selecionado. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em recipiente térmico com gelo e transportadas até o Laboratório de Saneamento da Universidade Federal do Espírito Santo (LABSAN).

Figura 2 - Coleta das amostras.



Fonte: Os autores.

3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

No LABSAN, cada amostra foi fracionada para a realização das análises físico-químicas e microbiológicas (bacteriológica e virológica). Para as análises virológicas, as amostras passaram por processo de inativação, conforme orientado por Wu et al. (2020), a 60°C por 90 minutos, para posterior processamento no mesmo dia. Na figura 3 são apresentadas as amostras separadas para os tipos de análises realizadas: físico-químicas e microbiológicas.

Figura 3 - Amostras separadas para as análises físico-químicas e microbiológicas.



Fonte: Os autores.

3.3.1 Parâmetros físico-químicos

Os parâmetros físico-químicos avaliados e seus respectivos métodos são apresentados no quadro 5 a seguir.

Quadro 5 - Parâmetros físico-químicos e seus respectivos métodos.

Parâmetro	Método
Sólidos Totais	Standard Methods for Water and Wastewater (2017)
Sólidos Suspensos Totais	
Sólidos Dissolvidos Totais	
DQO	
pH	Fita indicadora de pH
Oxigênio Dissolvido	Equipamento multiparâmetro (HANNA – HI 9829)
Salinidade	
Temperatura	
Condutividade	
Turbidez	

Fonte: Os autores.

3.3.1.1 Determinação dos sólidos

Na análise de sólidos totais (ST), um volume conhecido de cada amostra foi seco em cápsula (cadinho) previamente tarada e identificada, em estufa à 103-105°C, por 24 horas. A diferença entre a massa final e a massa inicial é denominada sólidos totais, e é dada pela equação (1).

$$ST (mg/L) = \frac{(M2 - M1) \times 1000}{Volume da amostra (mL)} \quad (1)$$

O cálculo dos sólidos totais foi realizado da forma apresentada acima, onde M1 representa a massa do cadinho vazio, previamente calcificado à 550 °C na mufla por

1 hora, e M2 representa a massa do cadinho com a amostra, após passar pela estufa.

Na análise de sólidos suspensos totais (SST), um volume conhecido de cada amostra coletada foi despejado em um sistema de filtração a vácuo, através de um papel de filtro de 0,45 µm de porosidade, onde os sólidos foram retidos. O filtro de papel foi colocado em um cadinho, previamente calcificado à 550 °C na mufla por 1 hora, e levado para a estufa à 103-105°C, por 24 horas. A diferença entre a massa final e a massa inicial dos cadinhos é denominada sólidos suspensos totais, dada pela equação (2).

$$SST (mg/L) = \frac{(M4-M3) \times 1000}{Volume da amostra (mL)} \quad (2)$$

O cálculo dos sólidos suspensos totais foi realizado da forma apresentada acima, onde M3 representa a massa do cadinho vazio e M4 representa a massa do cadinho com a amostra, após passar pela estufa.

Com os valores calculados para os sólidos totais e sólidos suspensos totais, foi calculado os sólidos dissolvidos totais (SDT), através da diferença entre eles, como é apresentado na equação (3).

$$SDT (mg/L) = ST - SST \quad (3)$$

3.3.1.2 Determinação da Demanda Química de Oxigênio

Em um tubo de digestão, foi adicionado 2,5 mL da amostra coletada, 1,5 mL de solução de digestão de dicromato e 3,5 mL de reagente com ácido argênico. O tubo foi fechado e invertido algumas vezes, para a mistura dos reagentes, e logo em seguida foi colocado no digestor HACH durante 2 horas a 150 °C.

Após o resfriamento do tubo, o mesmo foi limpo com álcool 70% e colocado em um local para decantar o precipitado e, em seguida, foi feita a leitura no espectrofotômetro e a absorvância foi lida com o comprimento de onda a 600 nm.

3.3.2 Parâmetros Microbiológicos

3.3.2.1 Coliformes Termotolerantes

Para as análises de coliformes termotolerantes, foi utilizada a Norma Técnica CETESB L5.221 (2012).

As amostras foram separadas e colocadas em frascos estéreis, previamente identificados. Todos os materiais utilizados nessa análise foram esterilizados por 15 minutos e a bancada foi desinfetada com álcool 70%.

Para a realização da primeira diluição (10^{-1}), a amostra de esgoto bruto foi homogeneizada e, com um auxílio de uma pipeta, um volume de 10 mL foi retirado e colocado em um frasco contendo 90 mL de água de diluição estéril. O frasco foi homogeneizado por, no mínimo, 25 vezes.

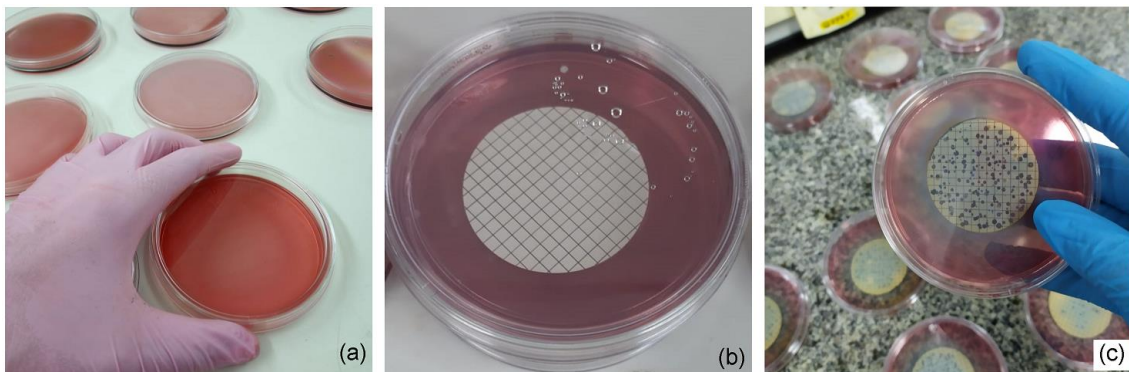
Esse processo foi repetido até chegar na sexta diluição, sendo que a quinta (10^{-5}) e sexta (10^{-6}) diluição foram filtradas e incubadas, ambas em duplicata. Portanto, para a quinta diluição foi necessários três frascos com água de diluição, dois para incubação e um para continuar a diluição.

Os volumes presentes nos frascos da quinta e sexta diluição foram filtrados mediante pressão negativa (vácuo), através de uma membrana filtrante, com porosidade de 0,45 μm . Além das diluições, um controle negativo (filtração da água de diluição) e controles positivos (filtração de uma quantidade de esgoto bruto) também foram realizados.

Após a filtração, a membrana foi cuidadosamente colocada na superfície da placa de Petri, que contém o meio de cultura seletivo e diferencial ágar m-FC, devidamente identificado com o nome da amostra e sua diluição.

O meio se difundiu para a membrana por capilaridade, entrando em contato com as bactérias e, após um período de incubação de 24 horas na estufa à 44,5°C, desenvolvem-se colônias com características típicas, de coloração azul, como é mostrado na figura 4.

Figura 4 - (a) Meio de cultura m-FC; (b) Meio com a membrana filtrante; (c) Meio com crescimento bacteriano.



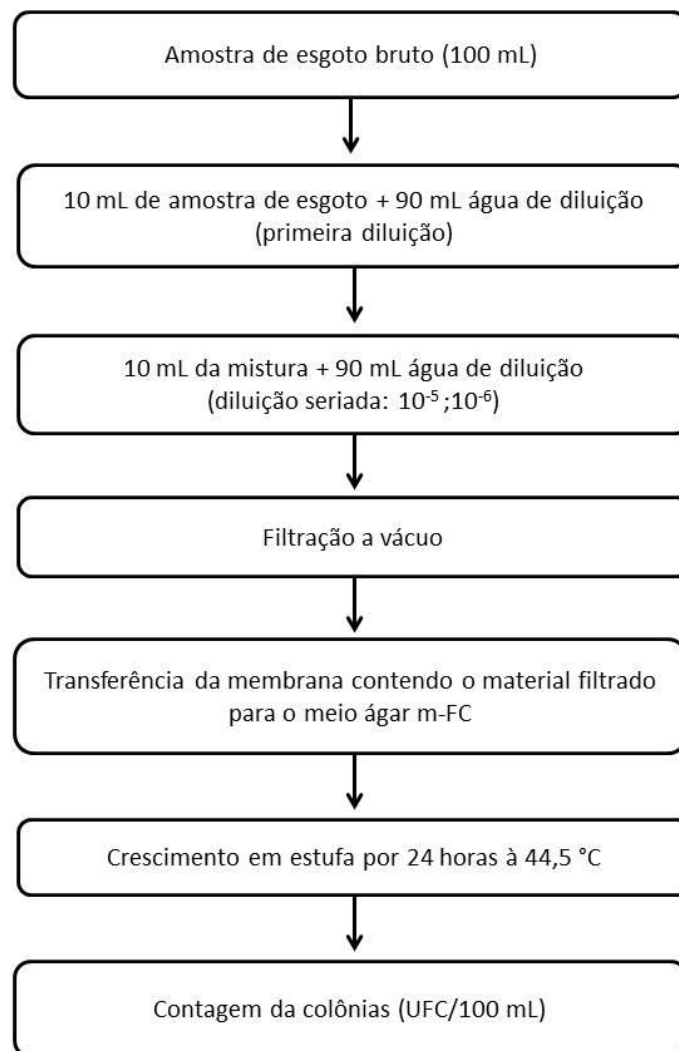
Fonte: Os autores.

De acordo com a Norma Técnica L5.221 (CETESB, 2012), os limites para a contagem de colônias típicas de coliformes termotolerantes em ágar m-FC situam-se entre 20 e 60 colônias. A partir da contagem dessas colônias, calculou-se a densidade de coliformes termotolerantes presentes na amostra, descrita pela equação (4).

$$\text{Coliformes Termotolerantes (UFC/100 mL)} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ total de colônias típicas}}{\text{Volume filtrado de amostra (mL)}} * 100 \quad (4)$$

A figura 5 apresenta o fluxograma das principais etapas realizadas na análise de coliformes termotolerantes nas amostras de esgoto bruto.

Figura 5 - Fluxograma das principais etapas realizadas na análise de coliformes termotolerantes nas amostras de esgoto bruto.



Fonte: Os autores.

3.3.2.2 Vírus SARS-CoV-2

A detecção do vírus SARS-CoV-2 nas amostras coletadas consistiu na execução de três etapas: concentração viral das amostras, extração do RNA viral e amplificação do RNA do SARS-CoV-2.

3.3.2.2.1 *Concentração viral nas amostras coletadas*

A concentração das amostras foi realizada pelo método de filtração em membrana, conforme descrito por Katayama et al. (2002).

Após a etapa de inativação, a amostra foi guardada até chegar à temperatura ambiente. Em sequência, 200 mL da amostra foi filtrada por membrana carregada negativamente com 0,45 µm de porosidade e 90 mm de diâmetro, previamente hidratada com água estéril.

Em seguida, a membrana foi lavada com 40 mL de H₂SO₄ 0,5 mM e a solução foi filtrada. Depois de realizada a etapa anterior, foi inserido no sistema de filtração um tubo de falcon preparado com 10 µL de H₂SO₄ 50 mM e 10 µL de TE 100x. A membrana foi coberta com 2 mL de NaOH 1 mM e, em sequência, ocorreu novamente a filtração, o filtrado foi concentrado no tubo de falcon, separado em alíquotas de 140 µL, e armazenado a - 20°C até a etapa de extração.

3.3.2.2.2 *Extração do RNA viral*

Para extração do RNA foi utilizado o Mini Kit QIAamp Viral RNA (Quiagen), seguindo as orientações recomendadas pelo fabricante.

3.3.2.2.3 *Amplificação da RNA do vírus SARS-CoV-2*

Após extração do RNA total das amostras de esgoto, ensaios específicos para detecção do vírus SARS-CoV-2 foram realizados. O RNA viral foi retrotranscrito e a amplificação do RNA viral foi realizada pela técnica PCR em tempo real, utilizando-

se o kit TaqMan (2019-nCoV Assay (nucleocapsid (N) gene), para avaliar os genes N1 e N2, de acordo com as diretrizes do CDC (2020). Os *primers* (*forward* e *reverse*) e a sonda utilizados nas reações seguem as diretrizes para identificação do novo coronavírus (CDC, 2020).

Água ultrapura foi usada como controle negativo da reação (NTC) e um plasmídeo contendo os genes do nucleocapsídeo como controle positivo (PTC). Adicionalmente, foi utilizado um controle interno da reação com o gene humano (RP).

Em um volume total de 20 µL de reação, foram incluídos 8,5 µL de água ultrapura, 1,5 uL do mix de primers e sonda, 5 uL do Master Mix TaqPath 1-Step RT-qPCR (ThermoFisher, A A28526) e 5,0 uL do template de ácidos nucleicos, produto da extração.

Os dados da PCR foram analisados no programa SDS v1.4 (Applied Biosystems). Os valores de Threshold cycle (Ct) foram determinados manualmente, ajustando o limiar de detecção dentro da fase exponencial das curvas de fluorescência e acima de qualquer sinal de background.

Os resultados foram considerados positivos quando mostrou uma curva sigmóide característica com um valor de Threshold cycle (Ct) ou limiar de ciclo menor do que 40 (WANG et al., 2020).

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Testes de estatística descritiva foram aplicados nos resultados das análises físico-químicas, bacteriológicas e virológicas quantitativas. As análises físico-químicas avaliaram: média, mínimo e máximo; as análises bacteriológicas: média geométrica, mínimo e máximo. Nas análises virológicas, avaliou-se a porcentagem de amostras positivas para o vírus SARS-CoV-2.

Para correlacionar os parâmetros físico-químicos e o indicador microbiológico com a presença do vírus SARS-CoV-2 no esgoto, foi utilizado a Correlação de Pearson, a partir de uma função no Excel.

4 RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos do monitoramento nas ETEs e canais superficiais da região metropolitana de Vitória/ES, realizado durante os meses de janeiro a dezembro de 2021, referente às análises físico-químicas e microbiológicas.

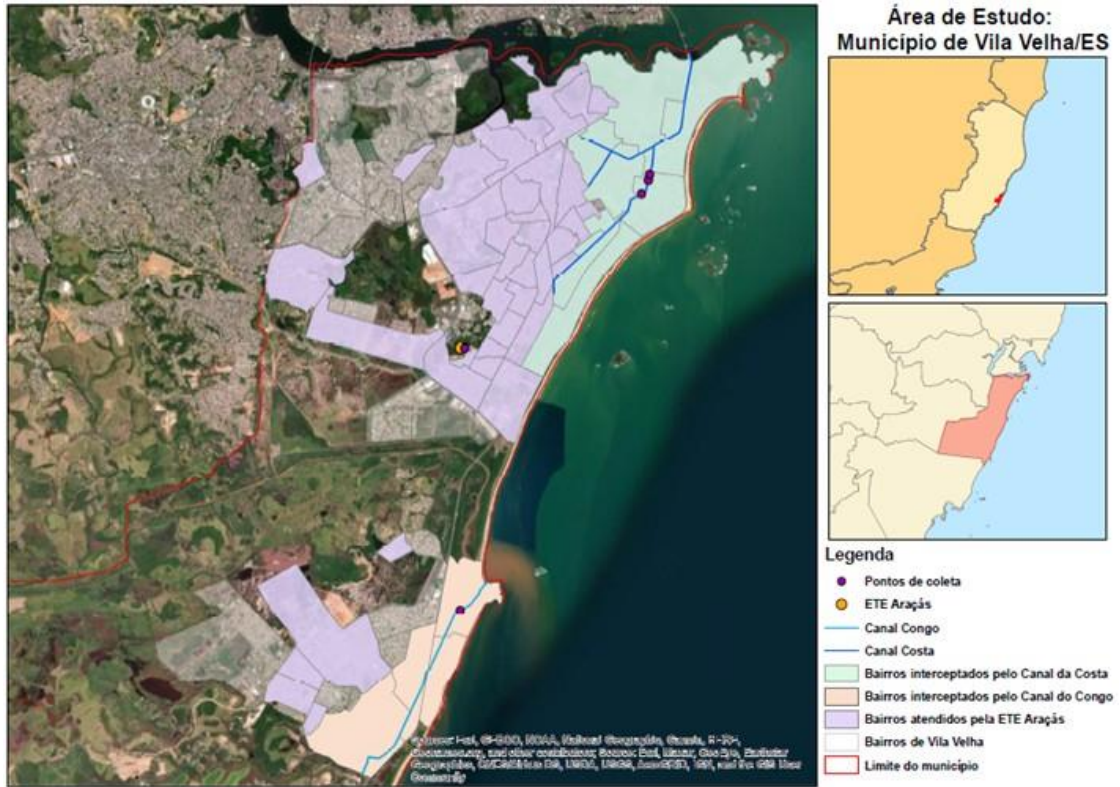
Foram coletadas 147 amostras de esgoto bruto, sendo: 38 amostras da ETE Araçás, 36 da ETE Manguinhos, 37 do Canal da Costa e 36 do Canal do Congo. Entretanto nem todas as análises puderam ser realizadas para todas as amostras.

4.1 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO

Para a realização das coletas das amostras de esgoto foi necessária a autorização da AEGEA, que é a responsável pelos serviços de esgotamento sanitário na região metropolitana de Vitória – ES.

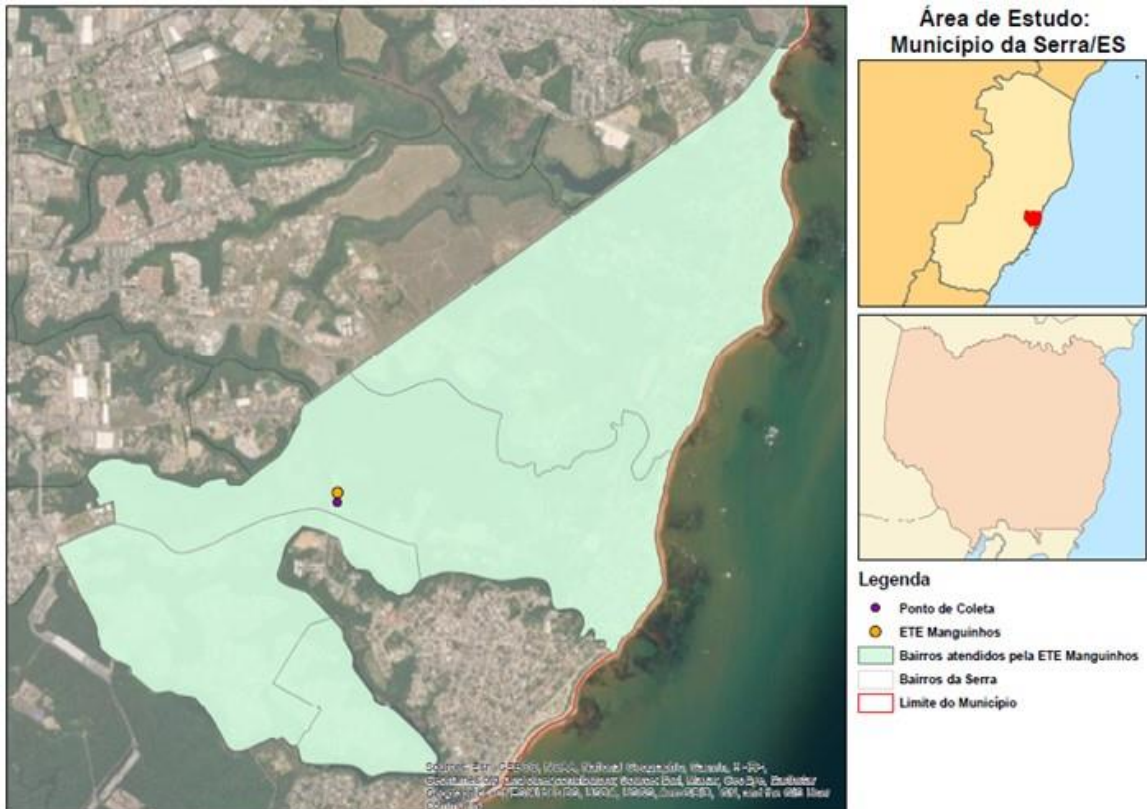
A AEGEA/CESAN autorizou a coleta nas ETEs Araçás e Manguinhos, localizadas nos municípios de Vila Velha e Serra, respectivamente. Além do monitoramento realizado nas ETEs, foram coletadas amostras de dois canais: Canal da Costa e Canal do Congo, no município de Vila Velha. Nas figuras 6 e 7 são apresentados os mapas das áreas de estudos, localizadas, respectivamente, nos municípios de Vila Velha e Serra.

Figura 6 - Mapa da área de estudo no município de Vila Velha - ES.



Fonte: Os autores.

Figura 7 - Mapa da área de estudo no município da Serra - ES.



Fonte: Os autores.

4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os resultados dos parâmetros físico-químicos (pH, Oxigênio Dissolvido, Condutividade, Salinidade, Turbidez, Temperatura, Demanda Química de Oxigênio, Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais) obtidos durante o monitoramento são apresentados a seguir nas tabelas de 1 a 10, com o número de análises realizadas em cada parâmetro, as médias anuais e os valores mínimos e máximos obtidos; e nas figuras de 8 a 17, com os resultados sendo representados pela média mensal.

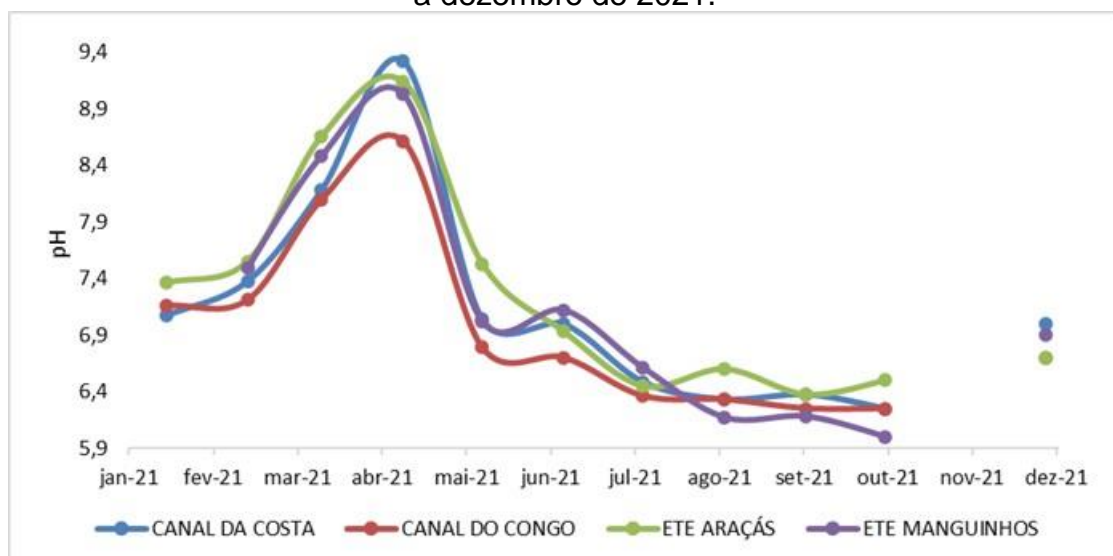
4.2.1 pH

Tabela 1 - Resultados da estatística descritiva das análises de pH das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	35	30	31	32
Média (min - máx)	7,29 (6 – 9,59)	7,08 (5,7 – 9,1)	7,11 (5,5 – 9,58)	7,01 (6 – 9,08)

Fonte: Os autores.

Figura 8 - Monitoramento do pH nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

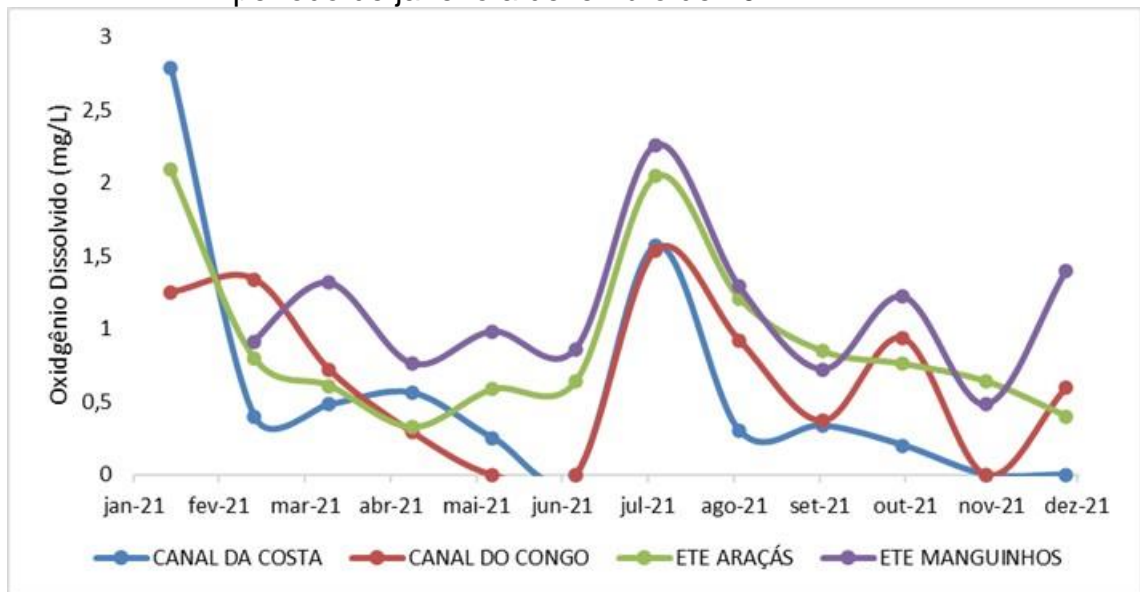
4.2.2 Oxigênio Dissolvido

Tabela 2 - Resultados da estatística descritiva das análises de oxigênio dissolvido (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estadística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	35	32	34	33
Média (min - máx)	0,86 (0,1 – 2,88)	1,22 (0 – 4,09)	0,52 (0 – 3,00)	0,63 (0 – 3,82)

Fonte: Os autores.

Figura 9 - Monitoramento do Oxigênio Dissolvido nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

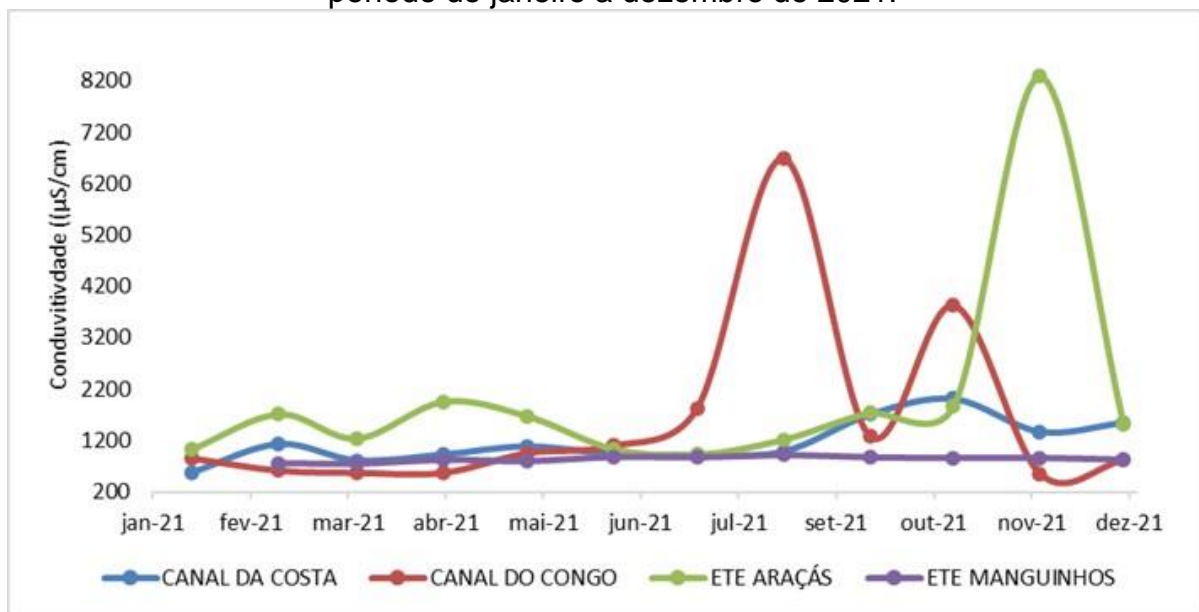
4.2.3 Condutividade

Tabela 3 - Resultados da estatística descritiva das análises de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	37	33	35	34
Média (min - máx)	1645,25 (520 – 8287)	834,18 (533 – 1212)	1166,42 (551 – 2670)	1649,44 (519 – 17860)

Fonte: Os autores.

Figura 10 - Monitoramento da Condutividade nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

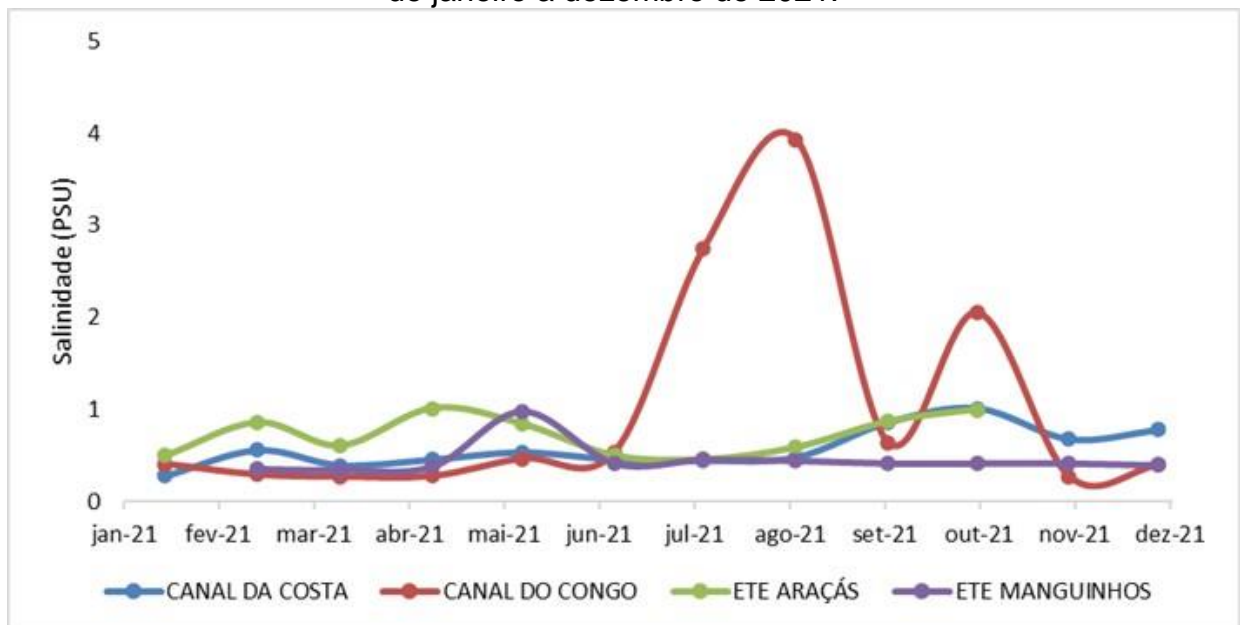
4.2.4 Salinidade

Tabela 4 - Resultados da estatística descritiva das análises de salinidade (PSU) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	37	33	35	34
Média (min - máx)	0,733 (0,25 – 1,95)	0,41 (0,31 – 0,6)	0,58 (0,26 – 1,36)	1,09 (0,25 – 10,71)

Fonte: Os autores.

Figura 11 - Monitoramento da Salinidade nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

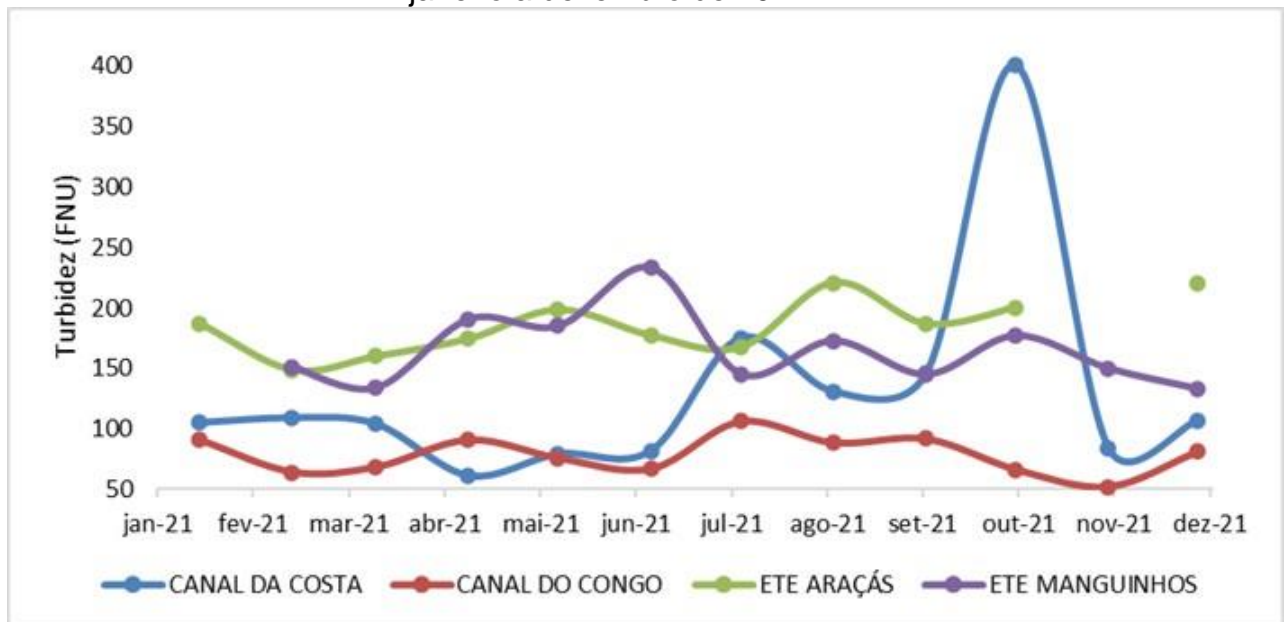
4.2.5 Turbidez

Tabela 5 - Resultados da estatística descritiva das análises de turbidez (FNU) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	37	34	36	35
Média (min - máx)	181,55 (45,00 – 300,00)	165,35 (19 – 329)	126,37 (41,6 – 750)	81,60 (40,3 – 160)

Fonte: Os autores.

Figura 12 - Monitoramento da Turbidez nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

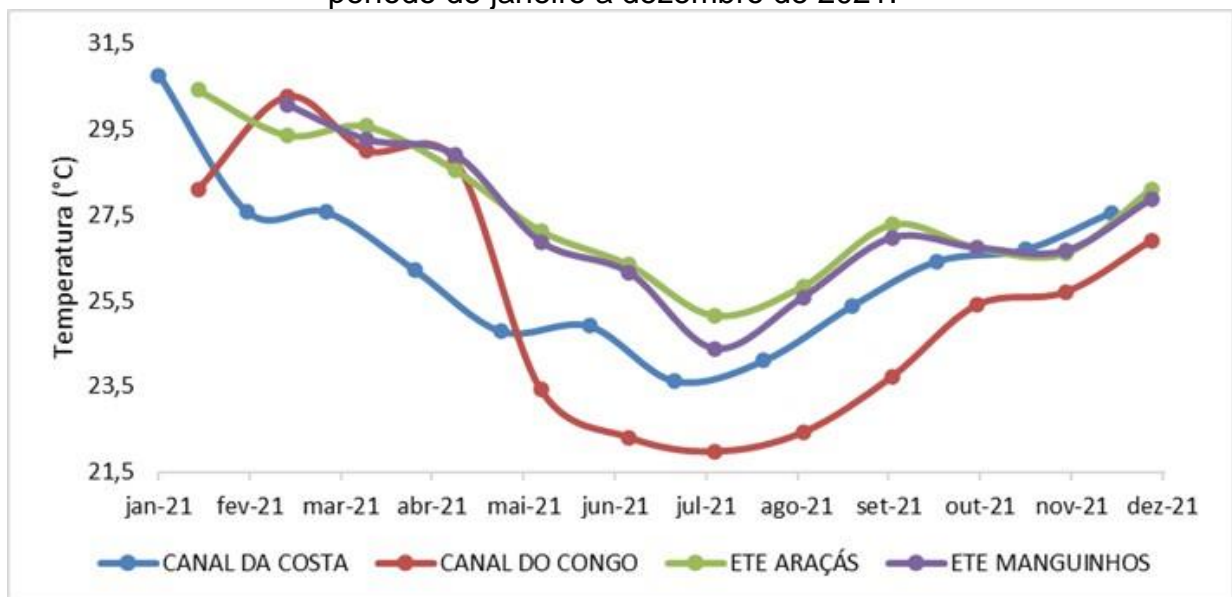
4.2.6 Temperatura

Tabela 6 - Resultados da estatística descritiva das análises de temperatura (°C) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	37	33	35	34
Média (min - máx)	27,39 (23,87 – 30,60)	27,18 (21,96 – 31,00)	25,93 (22,67 – 30,75)	25,40 (20,17 – 31,20)

Fonte: Os autores.

Figura 13 - Monitoramento da Temperatura nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

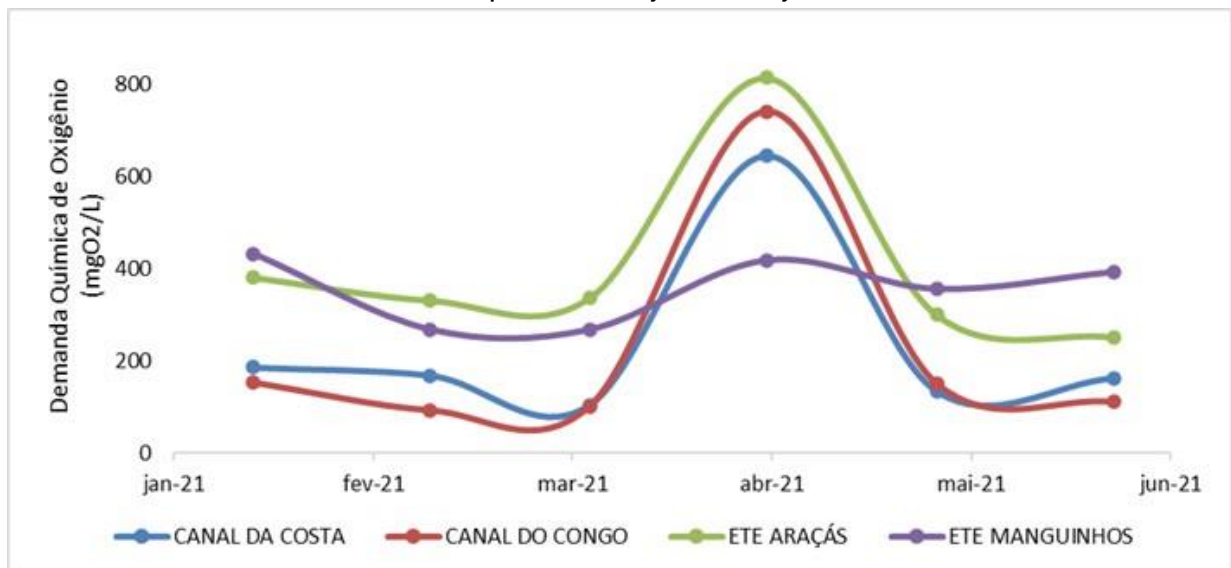
4.2.7 Demanda Química de Oxigênio

Tabela 7 - Resultados da estatística descritiva das análises de DQO (mgO₂/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	21	18	20	19
Média (min - máx)	440,60 (110,00 – 1729,67)	345,27 (176,48 – 560,16)	241,55 (62,33 – 2183,45)	283,35 (25,61 – 1384,73)

Fonte: Os autores.

Figura 14 - Monitoramento da Demanda Química de Oxigênio nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a julho de 2021.



Fonte: Os autores.

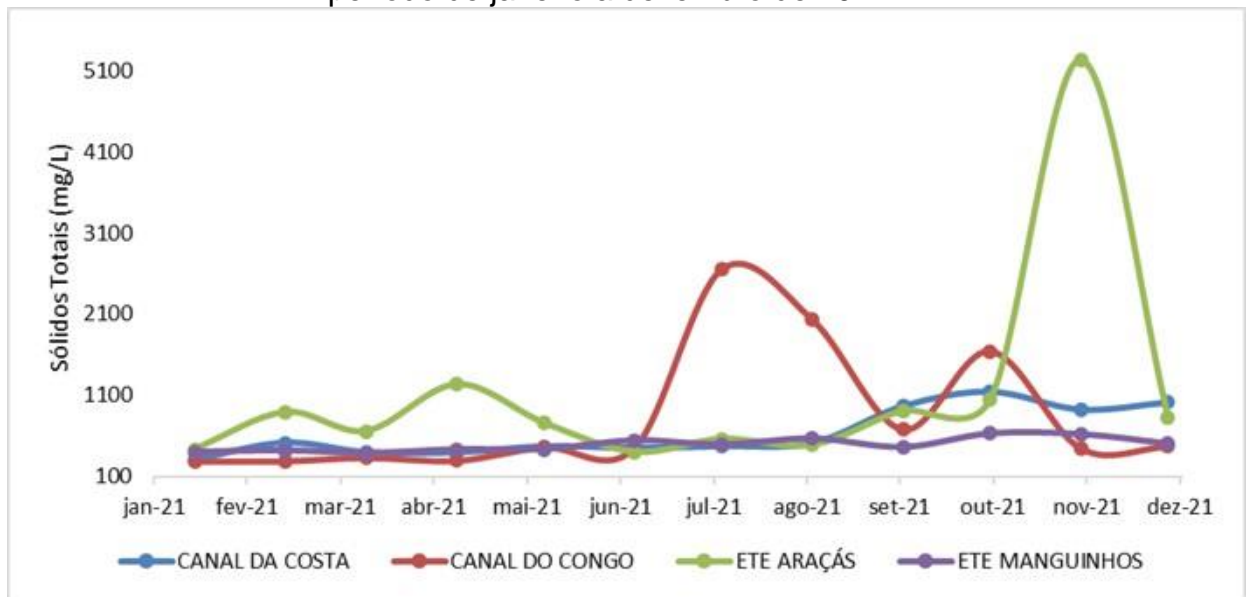
4.2.8 Sólidos Totais

Tabela 8 - Resultados da estatística descritiva das análises de ST (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	37	34	36	34
Média (min - máx)	909,16 (278,00 – 5234,00)	480,68 (288,00 – 737,00)	598,58 (216,00 – 1529,00)	896,77 (232,00 – 7852,00)

Fonte: Os autores.

Figura 15 - Monitoramento dos Sólidos Totais nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

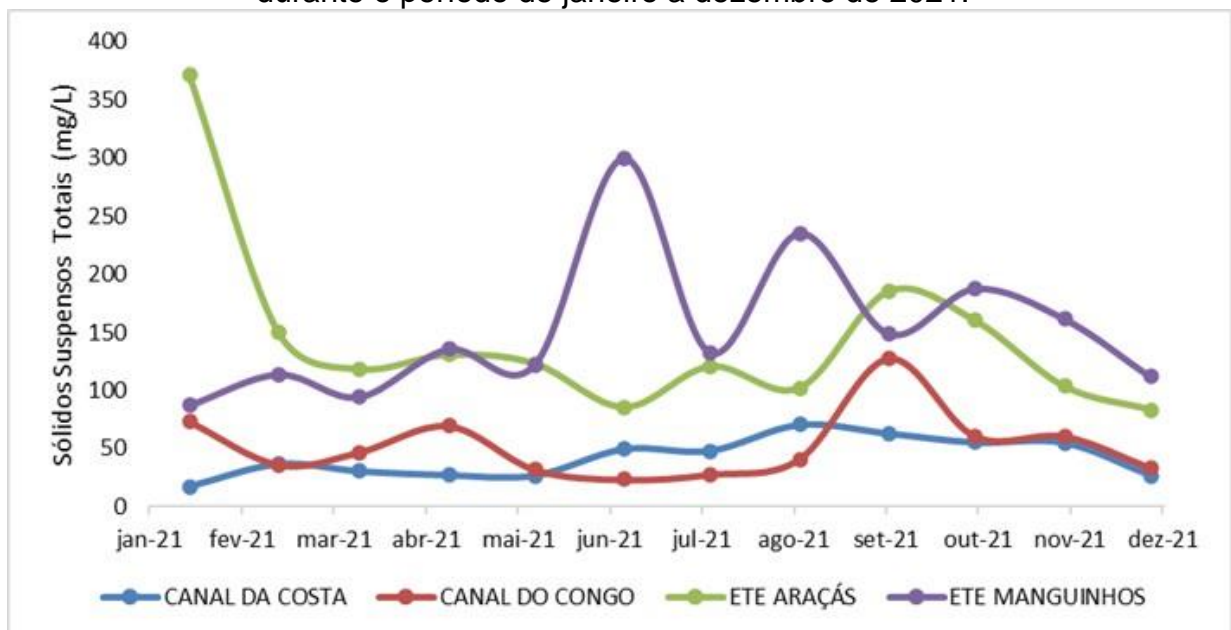
4.2.9 Sólidos Suspensos Totais

Tabela 9 - Resultados da estatística descritiva das análises de SST (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	36	34	36	33
Média (min - máx)	140,39 (46,50 – 638,00)	154,36 (73,67 – 622,50)	42,19 (6,29 – 100,00)	53,53 (10,00 – 314)

Fonte: Os autores.

Figura 16 - Monitoramento dos Sólidos Suspensos Totais nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

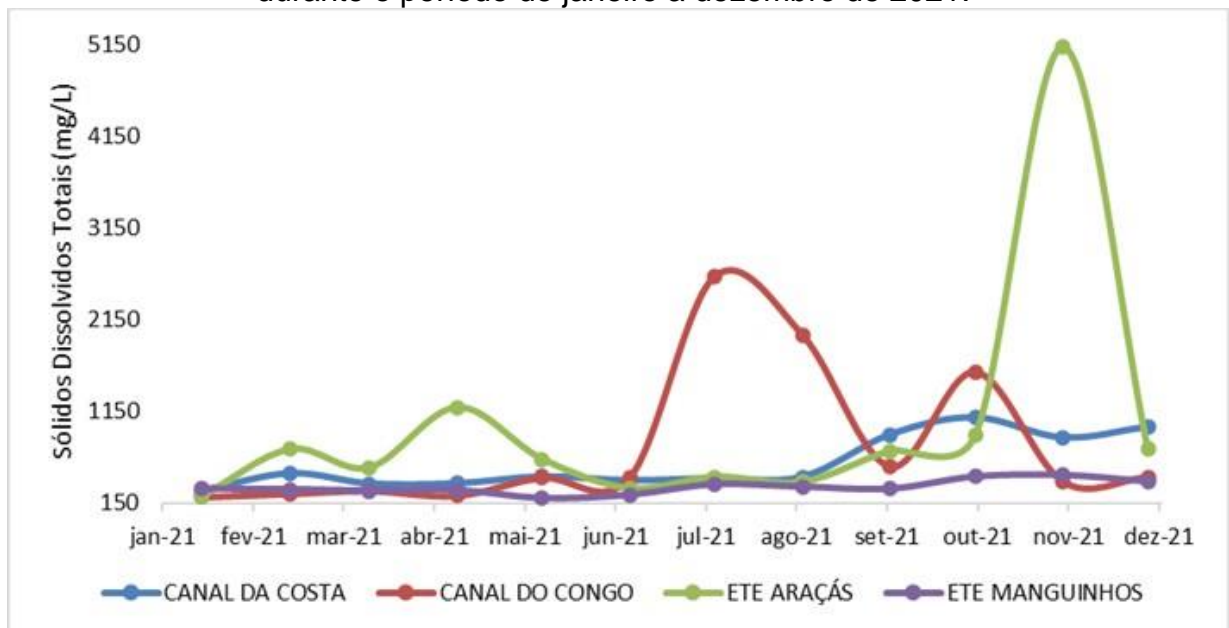
4.2.10 Sólidos Dissolvidos Totais

Tabela 10 - Resultados da estatística descritiva das análises de SDT (mg/L) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	36	34	36	33
Média (min - máx)	779,51 (91,50 – 5130,50)	326,31 (4,50 – 532,50)	556,39 (208,33 – 1470,43)	862,27 (205,14 – 7820)

Fonte: Os autores.

Figura 17 - Monitoramento dos Sólidos Dissolvidos Totais nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados dos parâmetros microbiológicos, Coliformes Termotolerantes e detecção do SARS-CoV-2, obtidos durante o período de realização do monitoramento, podem ser visualizados nas tabelas e gráficos apresentados a seguir.

4.3.1 Coliformes termotolerantes

A tabela 11 apresenta o número de análises realizadas, a média geométrica anual e os valores mínimos e máximos obtidos para os coliformes termotolerantes em cada ponto de coleta.

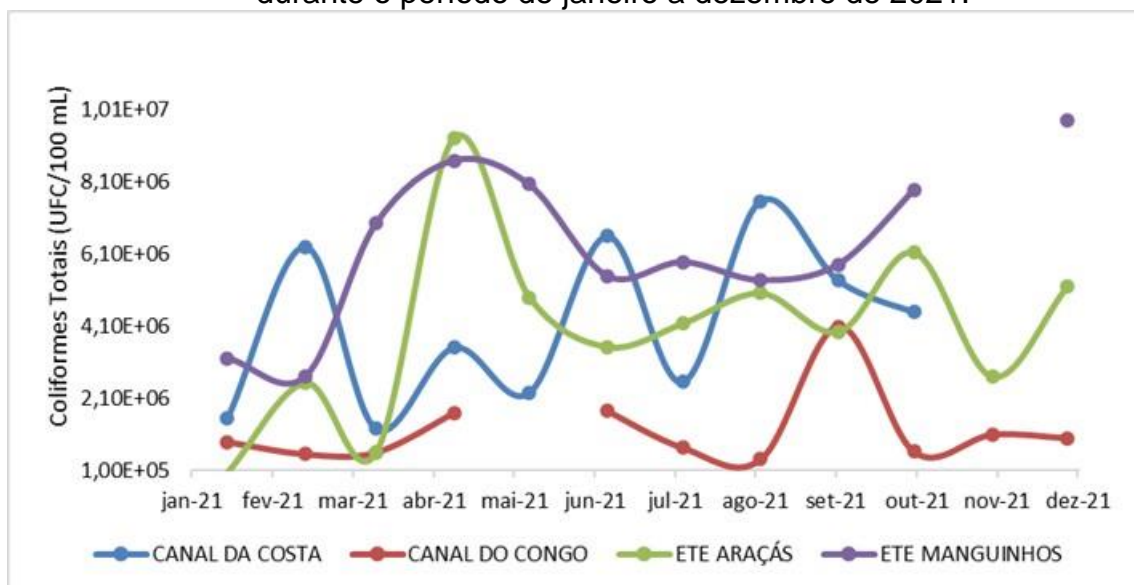
Tabela 11 - Resultados da estatística descritiva das análises de Coliformes Termotolerantes (UFC/100 mL) das amostras de esgoto bruto coletadas durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Estatística Descritiva	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
N	35	31	28	24
Média Geométrica (min - máx)	$3,59 \times 10^6$ ($5,46 \times 10^2$ - $1,30 \times 10^8$)	$6,46 \times 10^6$ ($8,00 \times 10^5$ - $2,65 \times 10^7$)	$3,23 \times 10^6$ ($6,00 \times 10^5$ - $9,00 \times 10^6$)	$1,04 \times 10^6$ ($1,00 \times 10^5$ - $8,20 \times 10^6$)

Fonte: Os autores.

A figura 18 apresenta, em forma de gráfico, os resultados do monitoramento dos coliformes termotolerantes, com os resultados sendo representados pela média mensal.

Figura 18 - Monitoramento dos Coliformes Termotolerantes nos 4 pontos de coleta, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.



Fonte: Os autores.

4.3.2 Vírus SARS-CoV-2

Os resultados obtidos da detecção do SARS-CoV-2 durante o período de monitoramento de janeiro a dezembro de 2021, para cada ponto de coleta selecionado na região metropolitana da Grande Vitória - ES, são apresentados na tabela 12. Na tabela 13 estão apresentados os resultados das análises de esgoto bruto obtidos pela PCR em tempo real quando avaliados os genes N1 e N2, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Todas as amostras que cruzaram a linha de limiar mostrando uma curva sigmóide característica com um valor de limiar de ciclo (Ct) menor que 40 (WANG et al., 2020) são consideradas positivas para a presença de RNA de SARS-CoV-2.

Tabela 12 - Resultados da detecção do SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto bruto, coletadas entre janeiro e dezembro de 2021, quando avaliados os genes N1 e N2.

Período	ETE Araçás	ETE Manguinhos	Canal da Costa	Canal do Congo
Jan/2021	+	+	-	-
Fev/2021	-	-	-	+
Mar/2021	+	-	+	-
Abr/2021	+	+	-	-
Mai/2021	-	-	-	-
Jun/2021	+	+	+	+
Jul/2021	+	-	-	-
Ago/2021	+	+	-	+
Set/2021	-	+	+	+
Out/2021	-	+	+	-
Nov/2021	+	+	-	-
Dez/2021	-	-	+	+

“-”: Resultado negativo; “+”: Resultado positivo.

Fonte: Os autores.

Tabela 13 – Resultados das análises de esgoto bruto pela PCR em tempo real quando avaliados os genes N1 e N2, durante o período de janeiro a dezembro de 2021.

Ponto de Amostragem	Nº de amostras analisadas	Nº de amostras positivas	% de amostras positivas	Faixa de CT – gene N1 (min – máx)	Faixa de CT – gene N2 (min – máx)
ETE Araçás	38	11	28,94	33,50 – 37,61	35,25 – 37,40
ETE Manguinhos	36	6	16,66	34,19 – 37,60	34,96 – 38,21
Canal da Costa	37	12	32,43	30,90 – 35,82	30,77 – 37,44
Canal do Congo	36	9	25,00	26,26 – 37,18	33,61 – 36,77
TOTAL	147	38	25,85	-	-

Fonte: Os autores.

4.4 CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E DO INDICADOR MICROBIOLÓGICO COM A PRESENÇA DO VÍRUS SARS-COV-2

As características físico-químicas podem influenciar a detecção de vírus no meio ambiente. Para correlacionar os parâmetros físico-químicos e indicador microbiológico com a presença do vírus SARS-CoV-2 no esgoto foi utilizado o método de Pearson, onde:

1. Resultados próximos de $r = 1$ evidenciam relação diretamente proporcional entre duas variáveis;
2. Resultados próximos de $r = -1$ evidenciam relação inversamente proporcional entre duas variáveis;
3. Resultados próximos de $r = 0$ evidenciam baixa relação entre duas variáveis.

Nas tabelas abaixo estão apresentados os resultados, obtidos através do Método de Pearson, das correlações dos parâmetros físico-químicos, exceto a DQO, e do indicador microbiológico com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.

Tabela 14 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico da ETE Araçás com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.

Parâmetro	Gene N1	Gene N2
pH	0,37	0,10
OD (mg/L)	0,41	-0,47
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	-0,26	-0,12
Salinidade (PSU)	-0,22	0,04
Turbidez (FNU)	-0,27	-0,10
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	0,13	-0,27
ST (mg/L)	-0,25	-0,11
SST (mg/L)	-0,45	0,40
SDT (mg/L)	-0,25	-0,12
Coliformes termotolerantes (UFC/100 mL)	0,60	0,21

Fonte: Os autores.

Tabela 15 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico da ETE Mangueiros com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.

Parâmetro	Gene N1	Gene N2
pH	-1,00	-0,77
OD (mg/L)	1,00	-0,61
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	0,09	-0,77
Salinidade (PSU)	0,00	-0,83
Turbidez (FNU)	-0,94	-0,40
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	-0,30	0,87
ST (mg/L)	0,78	-0,83
SST (mg/L)	0,02	-0,79
SDT (mg/L)	1,00	-0,54
Coliformes termotolerantes (UFC/100 mL)	0,42	0,18

Fonte: Os autores.

Tabela 16 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico do Canal da Costa com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.

Parâmetro	Gene N1	Gene N2
pH	-0,40	0,24
OD (mg/L)	0,19	0,05
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	-0,13	0,13
Salinidade (PSU)	-0,13	0,12
Turbidez (FNU)	0,36	0,06
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	-0,53	0,23
ST (mg/L)	-0,13	0,08
SST (mg/L)	0,55	0,40
SDT (mg/L)	-0,17	0,02
Coliformes termotolerantes (UFC/100 mL)	0,85	0,38

Fonte: Os autores.

Tabela 17 - Correlação dos parâmetros físico-químicos e do indicador microbiológico do Canal do Congo com o Ct do vírus SARS-CoV-2, considerando os genes N1 e N2.

Parâmetro	Gene N1	Gene N2
pH	0,67	0,33
OD (mg/L)	0,15	0,29
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	0,01	-0,71
Salinidade (PSU)	0,01	-0,71
Turbidez (FNU)	-0,23	0,52
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	0,36	0,34
ST (mg/L)	-0,06	-0,72
SST (mg/L)	-0,41	0,60
SDT (mg/L)	-0,05	-0,72
Coliformes termotolerantes (UFC/100 mL)	-0,91	-0,83

Fonte: Os autores.

5 DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BACTERIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE ESGOTO

Os parâmetros físico-químicos (pH, Oxigênio Dissolvido, Condutividade, Salinidade, Turbidez, Temperatura, Demanda Química de Oxigênio, Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais) e o parâmetro bacteriológico (coliformes termotolerantes) foram analisados com a finalidade de caracterizar as amostras ambientais coletadas.

De acordo com Ursulino et al. (2013), em amostras de esgoto bruto, o pH tende a ser inferior a 8,3 e o aumento deste parâmetro está associado a maiores concentrações de hidróxidos, carbonatos e bicarbonatos. Nos quatro pontos de coleta, os valores de pH apresentaram similaridade entre si, e em 84% das amostras, valores de pH inferiores a 8,3 foram observados, corroborando com estudo realizado por Ursulino et al. (2013). Nas amostras com pH acima de 9,3 pode-se concluir que o aumento alcalinidade está relacionado a maiores concentrações de hidróxidos, carbonatos e bicarbonatos nos efluentes das ETEs e canais superficiais monitorados.

O oxigênio dissolvido é essencial para os organismos aeróbicos, e a baixa concentração desse parâmetro está associada ao aumento da atividade bacteriana responsável pela estabilização da matéria orgânica (VON SPERLING, 1998). Conforme já esperado, nas ETEs, os valores de oxigênio dissolvido apresentaram baixas concentrações devido às altas cargas de matéria orgânica nos efluentes, enquanto, nos canais, as baixas concentrações de oxigênio dissolvido evidenciaram o lançamento de esgoto bruto.

A condutividade é a expressão numérica da capacidade de uma água conduzir a corrente elétrica. Este parâmetro também pode fornecer indicações relevantes sobre as variações da qualidade de amostras ambientais, principalmente em relação à concentração de minerais, à medida que mais sólidos dissolvidos são adicionados

na água, a condutividade tende a aumentar (CETESB, 2016). No segundo semestre de 2021, as amostras do Canal do Congo e ETE Araçás apresentaram valores maiores para o parâmetro de condutividade, neste mesmo período, também, foi observado o aumento das concentrações de Sólidos Dissolvidos Totais nas amostras ambientais, em consonância com definição da CETESB (2016).

Em relação à salinidade, em 97% das amostras coletadas este parâmetro foi inferior a 2,0 PSU. Entretanto, nos meses de julho, agosto e outubro de 2021, foi observado aumento expressivo da salinidade no Canal do Congo. Neste canal os pontos de coleta localizam-se próximos da região costeira, sendo assim, podem ter tido maior contribuição da água do mar e, conseqüentemente, maior concentração de sais que influenciaram no aumento da salinidade.

A turbidez é medida do grau de interferência à passagem de luz através de um fluido, este parâmetro está relacionado ao aumento ou diminuição da quantidade de sólidos suspensos totais presentes nos líquidos. Silva et al. (2019) avaliaram a turbidez de amostras de diferentes etapas do tratamento de esgoto e a turbidez média encontrada foi 272 FNU para o esgoto bruto. Em cerca de 96% das amostras coletadas, a turbidez foi inferior ao valor médio encontrado por Silva et al. (2019). Além disso, foi observado uma turbidez elevada no Canal do Congo, entretanto, não foi identificado relação com o aumento de sólidos suspensos totais.

Em regiões tropicais, a temperatura do esgoto varia aproximadamente entre 25°C a 35°C. Em relação aos pontos de coleta, durante o monitoramento, os valores médios de temperatura foram inferiores a 30°C, e permaneceram no intervalo de temperatura recorrente em zonas tropicais. Em estudo realizado por Klüsener & Silveira (2007), observaram que a temperatura do esgoto bruto e do ambiente possuem forte relação ($R^2 = 0,77$). De acordo com dados do CLIMA-DATA.ORG, na região metropolitana de Vitória – ES, a temperatura tende a diminuir entre os meses de abril e agosto. Nos 4 pontos de coleta, houve diminuição da temperatura nos meses de abril a agosto, corroborando pesquisa realizada por Klüsener & Silveira (2007).

As águas residuárias são comumente caracterizadas pela concentração de matéria orgânica, que é determinada pela Demanda Química de Oxigênio, sendo que quanto maior a quantidade de matéria orgânica presente no esgoto, maior será a DQO. Nos quatro pontos de coleta monitorados, os valores de DQO encontrados apresentaram comportamento similar entre si, com exceção do período de março a abril de 2021, onde houve aumento expressivo da DQO na ETE Araçás, Canal da Costa e Congo, pode-se concluir que o aumento deste parâmetro está associado a maiores concentrações de matéria orgânica nos pontos monitorados.

No Canal do Congo e ETE Araçás, houve aumento significativo do parâmetro de sólidos totais. No canal, o aumento da concentração de sólidos totais pode estar relacionado ao aumento de sais nas amostras coletadas, que também influenciaram o aumento da salinidade e concentração de sólidos dissolvidos totais para o mesmo período. Enquanto, na ETE Araçás, o aumento da concentração de sólidos totais pode estar associado a maior geração de águas residuárias geradas pela população atendida pelo sistema de esgotamento sanitário.

Nesta pesquisa, foi observado que ambas ETEs apresentaram concentrações médias de sólidos suspensos totais, superiores aos resultados de SST dos Canais da Costa e Congo. A discrepância entre os valores das ETEs e os Canais pode estar associada ao maior volume de esgoto que as ETEs recebem, além disso, nos canais, pode haver maior diluição das águas residuárias, o que pode influenciar na redução da concentração dos SST.

Durante o monitoramento, foi observado o aumento significativo dos sólidos dissolvidos totais no Canal do Congo e ETE Araçás. No canal, o aumento da concentração de sólidos dissolvidos totais pode estar associado a maior concentração de sais devido aos pontos de coleta serem próximos da região costeira, tendo maior influência da água do mar. Enquanto na ETE Araçás, o aumento da concentração dos sólidos dissolvidos totais pode estar relacionado ao aumento de matéria orgânica diluída no efluente.

Em relação aos coliformes termotolerantes, os quatro pontos de amostragem apresentaram características de esgoto doméstico, de acordo com classificação

definida por Von Sperling (1988). Sendo que, no Canal do Congo, foi observado menores concentrações, o que pode evidenciar menor contribuição de esgoto bruto em relação ao Canal da Costa, já que este apresentou valores mais similares às ETEs Manguinhos e Araçás, mostrando a total descaracterização do canal.

5.2 DETECÇÃO DO VÍRUS SARS-COV-2 NAS AMOSTRAS DE ESGOTO

Para a detecção do SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto bruto, foi utilizado o método de filtração em membrana (Método B) proposto por Ahmed et al. (2015) na etapa de concentração viral. Embora os autores tenham relatado uma maior eficiência com a utilização do método de ultracentrifugação (Método A), tal metodologia necessita de uma ultracentrífuga que não havia disponível no laboratório de pesquisa (LABSAN) e o custo para a aquisição do equipamento seria elevado.

No total, 147 amostras de esgoto bruto foram coletadas semanalmente durante o período de janeiro a dezembro de 2021 e a amplificação do RNA do SARS-CoV-2 foi realizada pela técnica PCR em tempo real. O vírus foi detectado em 38 amostras, resultando em uma taxa de positividade de 25,85%. Em comparação com trabalhos semelhantes, como Ahmed et al. (2020), La Rosa et al. (2020) e Randazzo et al. (2020), que obtiveram uma taxa de positividade entre 11% e 50% para o vírus SARS-CoV-2, o valor de detecção obtido neste trabalho está dentro do esperado, portanto, a PCR em tempo real, quando utilizada na detecção de vírus em amostras de águas residuárias, é capaz de determinar com sucesso a diversidade e a abundância de diversos patógenos virais, incluindo o SARS-CoV-2.

5.3 CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E DO INDICADOR MICROBIOLÓGICO COM A PRESENÇA DO VÍRUS SARS-COV-2 NO ESGOTO

Para a avaliar as correlações entre os parâmetros físico-químicos e indicador microbiológico com a presença do vírus SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto bruto, foram considerados os pontos de coleta com variação de Ct superior a 10,

considerando os genes N1 e N2. Conforme apresentado na tabela 13, apenas no Canal do Congo houve variação do Ct superior 10 entre os valores de mínimo e máximo, para o gene N1. As ETEs e o Canal da Costa apresentaram variação de Ct inferior a 10, para ambos os genes alvos.

A maioria dos estudos de correlação entre os parâmetros físico-químicos e microbiológicos com a presença do SARS-CoV-2 correlaciona a concentração do SARS-CoV-2 (CG/L) nas amostras com os parâmetros. Nesta pesquisa, apenas foi possível realizar a etapa de detecção viral, considerando positivas as amostras com Ct inferior a 40. Sendo assim, foi realizada a correlação entre os parâmetros físico-químicos e indicador microbiológico com os valores de Ct, sendo estes inversamente proporcionais à presença do SARS-CoV-2 nas amostras coletadas, ou seja, quanto menor o valor do Ct, maior a presença do vírus na amostra.

Conforme apresentado na tabela 17, no Canal do Congo e considerando o gene N1, entre os parâmetros avaliados, o pH e coliformes termotolerantes apresentaram as maiores correlações com os valores de Ct.

O pH apresentou correlação diretamente proporcional com os valores de Ct do SARS-CoV-2 das amostras do Canal do Congo, sendo assim, neste ponto de coleta, o aumento do pH foi indicativo da menor presença do SARS-CoV-2.

O parâmetro Coliformes Termotolerantes apresentou correlação inversamente proporcional com os valores de Ct das amostras do Canal do Congo, posto isto, o aumento dos coliformes termotolerantes foi indicativo da maior presença do SARS-CoV-2.

Devido às pequenas variações do Ct's das ETEs Manguinhos e Araçás e do Canal da Costa, para estes pontos, não foram avaliados as variações dos parâmetros e os valores de Ct's SARS-CoV-2, mesmo sendo obtidas correlações pelo método de Pearson, conforme apresentado nas tabelas 14, 15 e 16. Em relação ao Canal do Congo, que apresentou variação de Ct superior a 10, apenas o pH e coliformes termotolerantes apresentaram correlação com a detecção com SARS-CoV-2, dentre os 10 parâmetros monitorados durante a execução da pesquisa.

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

As características físico-químicas e bacteriológicas das águas das ETEs Araçás e Manguinhos e dos Canais da Costa e do Congo aproximam-se da classificação de esgoto doméstico. Os resultados indicam que uma parcela significativa de esgoto não tratado é lançada diretamente nas águas superficiais dos canais selecionados. Conforme as legislações vigentes que dispõem sobre a qualidade de água, as águas dos canais superficiais que foram avaliados neste estudo não podem ser consideradas águas doces e nem águas próprias.

Foi encontrado o vírus SARS-CoV-2 em uma parcela significativa das amostras. Os resultados confirmam a presença do vírus nos afluentes das ETEs e nos canais avaliados, portanto, o método de PCR em tempo real mostrou-se eficiente para a detecção do vírus SARS-CoV-2 em amostras de esgoto bruto.

O presente trabalho mostrou apenas correlação existente entre os parâmetros pH e Coliformes Termotolerantes, considerando o gene N1, e as variações de Ct do SARS-CoV-2 nas amostras do Canal do Congo. Entretanto, como as correlações encontradas foram pontuais, não podemos concluir que os parâmetros pH e Coliformes Termotolerantes são indicativos da presença do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto.

Por fim, sugerimos a realização de estudo de quantificação da carga viral nas amostras de esgoto dos canais e ETEs monitorados durante essa pesquisa, para aprimorar os dados de correlação obtidos e para fins comparativos com pesquisas que correlacionam a carga viral com os parâmetros físico-químicos e microbiológicos do esgoto.

Nesta pesquisa, não foi realizado estudo de epidemiologia baseado no esgoto, portanto sugerimos a realização de uma pesquisa de comparação entre os dados ambientais com os dados clínicos das regiões analisadas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAKUR, E. H. A.; ALNOUR, T. M. S. Genetic variations among SARS-CoV-2 strains isolated in China. **Gene Reports**, Tabuk, v. 21, out. 2020.

Agência Nacional de Águas. **Atlas Esgotos**, 2017. Disponível em: <<http://atlasesgotos.ana.gov.br/>>. Acesso em: 25 de maio de 2022.

AHMED, W.; ANGEL, N.; EDSON, J.; BIBBY, K.; BIVINS, A.; O'BRIEN, J. W.; CHOI, P. M.; KITAJIMA, M.; SIMPSON, S. L.; LI, J.; TSCHARKE, B.; VERHAGEN, R.; SMITH, W. J. M., ZAUGG, J.; DIERENS, L.; HUGENHOLTZ, P.; THOMAS, K.V.; MUELLER, J. F. 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**, Dutton Park, v. 728, abr. 2020.

AHMED, W.; HARWOOD, V. J.; GYAWALI, P.; TOZE, S. Comparison of Concentration Methods for Quantitative Detection of Sewage-Associated Viral Markers in Environmental Waters. **Applied and Environmental Microbiology**, East Lansing, v. 81, n. 6, p. 2042-2049, fev. 2015.

ALBINANA-GIMENEZ, N.; CLEMENTE-CASARES, P.; BOFILLMASS, S.; HUNDESA, A.; RIBAS, F.; GIRONES, R. Distribution of human polyoma-viruses, adenoviruses, and hepatitis E virus in the environment and in a drinking-water treatment plant. **Environmental Science & Technology**, Barcelona, v. 40, n. 23, p. 7416-7422, set. 2006.

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 23 ed. Washington DC: LMC – Pharmabooks, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9648: Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário - Procedimento**. Rio de Janeiro. 1986.

BERTELS, X.; DEMEYER, P.; BOGAERT, S. V. D.; BOOGAERTS, T.; NUIJS, A. L. N. V.; DELPUTTE, P.; LAHOUSSE, L. Factors influencing SARS-CoV-2 RNA concentrations in wastewater up to the sampling stage: A systematic review. **Science of the Total Environment**, Ghent, v. 820, mai. 2022.

BOSCH, A. Human enteric viruses in the water environment: a minireview. **International Microbiology**, Barcelona, v. 1, p. 191-196, jul. 1998.

BOSCH, A.; GUIX, S.; SANO, D.; PINTÓ, R. M. New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water. **Current Opinion in Biotechnology**, Barcelona, v. 19, n. 3, p. 295 – 301, jun. 2008.

BRASIL. Lei Nacional nº 11.445, de 5 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, 5 jan. 2007. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm. Acesso em: 25 maio 2022.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Coronavírus 2019**, 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/>. Acesso em: 10 de março de 2022.

CHAVARRIA-MIRÓ, G.; ANFRUNS-ESTRADA, E.; GUIX, S.; PARAIRA, M.; GALOFRÉ, B.; SÁNCHEZ, G.; PINTO, R. M.; BOSCH, A. Sentinel surveillance of SARS-CoV-2 in wastewater anticipates the occurrence of COVID-19 cases. **Applied and Environmental Microbiology**, Paterna, v. 87, n. 7, jun. 2020.

CHEN, Y.; CHEN, L.; DENG, Q.; ZHANG, G.; WU, K.; NI, L.; YANG, Y.; LIU, B.; WANG, W.; WEI, C.; YANG, J. The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients. **Journal of Medical Virology**, Wuhan, v. 92, n. 7, p. 833-840, jun. 2020.

CHEN, Z.; HSU, F. H.; BATTIGELLI, D.; CHANG, H. C. Capture and release of viruses using amino-functionalized silica particles. **Analytica Chimica Acta**, Notre Dame, v. 569, p. 76-82, mai. 2006.

CLIMATE-DATA. **Clima: Espírito Santo**. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/espírito-santo-210/>. Acesso em: 29 de julho de 2022.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Águas Interiores**, 2022. Disponível em: < <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/informacoes-basicas/tpos-de-agua/#:~:text=Dentro%20das%20%C3%A1guas%20doces%2C%20as,da%20utiliza%C3%A7%C3%A3o%20para%20diversos%20processos.>>. Acesso em: 25 de maio de 2022.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **L5.221: Coliformes Termotolerantes – Determinação pela técnica de membrana filtrante: Método de ensaio**. São Paulo: CETESB, 2012.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade**, 2016. Disponível em: < <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2013/11/Ap%C3%AAdice-D-Significado-Ambiental-e-Sanit%C3%A1rio-das-Vari%C3%A1veis-de-Qualidade-29-04-2014.pdf>>. Acesso em: 20 de junho de 2022.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA n° 274/2000**: Revoga os artigos 26 a 34 da Resolução no 20/86 (revogada pela Resolução no 357/05). Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras. Brasil: CONAMA, 2000.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA n° 375/2005**: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasil: CONAMA, 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA n° 430/2011**: Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e

altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Brasil: CONAMA, 2011.

D'AOUST, P.; GRABER, T.; MERCIER, E.; MONPEPIT, D.; ALEXANDROV, I.; NEAULT, N.; BAIG, A.; MAYNE, J.; ZHANG, X.; ALAIN, T.; SERVOS, M.; SRIKANTHAN, N.; MACKENZIE M.; FIGEYS, D.; MANUEL, D.; JUNI, P.; MACKENZIE, A.; DELATOLLA, R. Catching a resurgence: Increase in SARS-CoV-2 viral RNA identified in wastewater 48 h before COVID-19 clinical tests and 96 h before hospitalizations. **Science of the Total Environment**, Ottawa, v. 770, mai. 2021.

ELSAMADONY M.; FUJII M.; MIURA T.; WATANABE T. Possible transmission of viruses from contaminated human feces and sewage: Implications for SARS-CoV-2. **Science of the Total Environment**, Tóquio, v. 755, fev. 2021.

FARAG, E. A.; ISLAM, M. M.; ENAN, K.; EL-HUSSEIN, A. R. M.; BANSAL, D.; HAROUN, M. SARS-CoV-2 at the human-animal interface: A review. **Heliyon**, Doha, v. 7, n. 12, dez. 2021.

FILHO, E. V. S.; FERREIRA, G. A. C. O Rio da Costa e suas fases de transformações: de rico manancial hídrico ao “valão”. In: XVIII ENCONTRO NACIONAL DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA EM PLANEJAMENTO URBANO E REGIONAL, 2019, Natal. **Anais XVIII ENANPUR**. Natal: 2019, v.1, p. 1-17.

FOLADORI, P.; CUTRUPI, F.; SEGATA, N.; MANARA, S.; PINTO, F.; MALPEI, F.; BRUNI, L.; LA ROSA, G. SARS-CoV-2 from faeces to wastewater treatment: What do we know? A review. **Science of The Total Environment**, Trento, v. 743, jun. 2020.

GONÇALVES, J.; TORRES-FRANCO, A.; RODRIGUÉZ, E.; DIAZ, I.; KORITNIK, T.; SILVA, P. G.; MESQUITA, J. R.; TRKOV, M.; PARAGI, M.; MUÑOZ, R.; GARCÍA-ENCINA, P. A. Centralized and decentralized wastewater-based epidemiology to

infer COVID-19 transmission – A brief review. **One Health**, Valladolid, v. 15, mai. 2022.

GREENING, G. E.; HEWIT, J.; LEWIS, G. D. Evaluation of integrated cell culture-PCR (C-PCR) for virological analysis of environmental samples. **Journal of Applied Microbiology**, Porirua, v. 93, p. 745-750, out. 2002.

HONG, P. Y.; RACHMADI, A. T.; MANTILLA-CALDERON, D.; ALKAHTANI, M.; BASHAWRI, Y. M.; QARNI, H. A.; O'REILLY, K. M.; ZHOU, L. Estimating the minimum number of SARS-CoV-2 infected cases needed to detect viral RNA in wastewater: To what extent of the outbreak can surveillance of wastewater tell us?. **Environmental Research**, Thuwal, v. 195, abr. 2021.

INSTITUTO JONES DOS SANTOS NEVES (IJSN). **Elaboração dos estudos para desassoreamento e regularização dos leitos e margens dos rios Jucu, Formate e Marinho na Região Metropolitana da Grande Vitória**, 2009. Disponível em: <https://sedurb.es.gov.br/Media/sedurb/Licitacoes/REL%20DIMENSIONAMENTO%20FORMATE_Anexo%20A.pdf>. Acesso em: 05 de junho de 2022.

KATAYAMA, H., SHIMASAKI, A., OHGAKI, S. Development of a Virus Concentration Method and Its Application to Detection of Enterovirus and Norwalk Virus from Coastal Seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, Tóquio, v. 68, n. 3, p. 1033-1039, mar. 2002.

KHALIL, O. A. K; KHALIL, S. S. SARS-CoV-2: taxonomia, origem e constituição. **Revista de Medicina**, São Paulo, v. 99, n. 5, p. 473-479, out. 2020.

KLÜSENER, J. J.; SILVEIRA, G. L. Correlações entre a temperatura do esgoto e a temperatura do ar. In: XVII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, 2007, São Paulo. **XVII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos**. São Paulo: 2007.

LA ROSA, G.; IACONELLI, M.; MANCINI, P.; MANCINIA, P.; FERRARO, G. B.; VENERI, C.; BONADONNA, L.; LUCENTINI, L.; SUFFREDINI, E. First detection of

SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. **Science of the Total Environment**, Roma, v. 736, set. 2020.

LANDAU, E. C.; MOURA, L. **Variação geográfica do saneamento básico no Brasil em 2010: Domicílios urbanos e rurais**. Brasília: Editoras Técnicas, 2016.

LI, G.; YAOHUA, F.; LAI, Y.; HAN, T.; LI, Z.; ZHOU, P.; PANELA, P.; WANG, W.; HU, D.; LIU, X.; ZHANG, Q.; WU, J. Coronavirus infections and immune responses. **Journal of Medical Virology**, Guangzhou, v. 92, n. 4, p. 424-432, abr. 2020.

LI, Y.; FAN, Q.; ZHOU, B.; SHEN, Y.; ZHANG, Y.; CHENG, L.; QI, F.; SONG, S.; GUO, Y.; YAN, R.; JU, B.; ZHANG, Z. Structural and functional analysis of an inter-Spike bivalent neutralizing antibody against SARS-CoV-2 variants. **Cell Press**, Hangzhou, v. 25, n. 6, jun. 2022.

LO, I. L.; LIO, C. F.; CHEONG, H. H.; LEI, C. I.; CHEONG, T. H.; ZHONG, X.; TIAN, Y.; SIN, N. N. Evaluation of SARS-CoV-2 RNA shedding in clinical specimens and clinical characteristics of 10 patients with COVID-19 in Macau. *International Journal of Biological Sciences*, Macau, v. 16, p. 1698-1707, mar. 2020.

LU, E.; AI, Y.; DAVIS, A.; STRAATHOF, J.; HALLORAN, K.; HULL, N.; WINSTON, R.; WEIR, M. H.; SOLLER, J.; BOHREROVA, Z.; OGLESBEE, M.; LEE, J. Wastewater surveillance of SARS-CoV-2 in dormitories as a part of comprehensive university campus COVID-19 monitoring. **Environmental Research**, Columbus, v. 212, jun. 2022.

MACHADO, C. J. S. Ciências, políticas públicas e sociedade sustentável. Rio de Janeiro: e-papers, 2012. 286 p.

MAO, K.; ZHANG, H.; PAN, Y.; YANG, Z. Biosensors for wastewater-based epidemiology for monitoring public health. **Water Research**, Guiyang, v. 191, mar. 2021.

MASACHESSI, G.; CASTRO, G.; CACHI, A. M.; MARINZALDA, M. L. A.; LIENDO, M.; PISANO, M. B.; SICILIA, P.; IBARRA, G.; ROJAS, R. M.; LOPEZ, L.; BARBÁS,

G.; CARDOZO, D.; RÉ, V. E.; NATES, S. V. Wastewater based epidemiology as a silent sentinel of the trend of SARS-CoV-2 circulation in the community in central Argentina. **Water Research**, Córdoba, v. 219, jul. 2022.

MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R. Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage. **Environmental Science & Technology Letters**, Nieuwegein, v. 7, n. 7, p. 511-516, mai. 2020.

MEHNERT, D.U.; QUEIROZ, A.P.S.; PAULI, V.; MONEZI, T.A.; HÁRSI, C.M. Virus: a new parameter for determination of water quality. **Virus Reviews and Research**, São Paulo, v. 6, p. 67, jan. 2001.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse**. 3 ed. New York: McGraw-Hill International Editions, 1991.

MISHRA, P. M.; ANJUM, F.; UVERSKY, V. N.; NANDI, C. K. SARS-CoV-2 Spike mutations modify the interaction between virus. Spike and human ACE2 receptors. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Mandi, v. 620, p. 8-14, set. 2022.

MONTEIRO, S.; RENTE, D.; CUNHA, M. V.; GOMES, M. C.; MARQUES, T. A.; LOURENÇO, A. B.; CARDOSO, E.; ÁLVARO, P.; SILVA, M.; COELHO, N.; VILAÇA, J.; MEIRELES, F.; BRÔCO, N.; CARVALHO, M.; SANTOS, R. A wastewater-based epidemiology tool for COVID-19 surveillance in Portugal. **Science of the Total Environment**, v. 804, jan. 2022.

MYRMEL, M.; BERG, E. M. M.; GRINDE, B.; RIMSTAD, E. Enteric viruses in inlet and outlet samples from sewage treatment plants. **Journal of Water and Health**, Oslo, v. 42, p. 197-209, jun. 2006.

PASSAMANI, F. C. **Análise da macrodrenagem de uma bacia urbana costeira com auxílio de modelagem hidrológica e hidráulica**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2016.

PRADO, T.; MIAGOSTOVICH, M. P. Virologia ambiental e saneamento no Brasil: uma revisão narrativa. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 7, p. 1367-1378, jul. 2014.

PREFEITURA MUNICIPAL DA SERRA. **Plano Municipal de Saneamento Básico. Eixo: Água e Esgoto. Prefeitura da Serra**, 2016. Disponível em: <<http://www4.serra.es.gov.br/site/download/201606-plano-municipal-de-saneamento-de-serra-final-audifax.pdf>>. Acesso em: 20 de junho de 2022.

PREFEITURA MUNICIPAL DE VILA VELHA. **Plano Municipal de Saneamento Básico de Vila Velha/ES**, 2014. Disponível em: <https://www.vilavelha.es.gov.br/midia/paginas/5599_2015_Plano_Saneamento_Basico-SEMMA_Proc_57449-14-Anexo_Aut_3363-14.pdf>. Acesso em: 20 de junho de 2022.

RANDAZZO, W.; TRUCHADO, P.; CUEVASFERRANDO, E. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. **Water Research**, Valencia, v. 181, mai. 2020.

RIGOTTO, C.; SINCERO, T. C. M.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Detection of adenoviruses in shellfish by means of conventional-PCR, nested-PCR, and integrated cell culture PCR (ICC/PCR). **Water Research**, Florianópolis, v. 39, p. 297-304, jan./fev. 2005.

SARTÓRIO, M. V. O. **Desnaturalização dos sistemas fluviais urbanos: O caso do canal da Costa e do canal Bigossi, Vila Velha (ES)**. 2018. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2018.

SCHMITZ, B. W.; INNES, G. K.; PRASEK, S. M.; BETANCOURT, W. Q. ; STARK, E. R.; FOSTER, A. R.; ABRAHAM, A. G.; GERBA, C. P.; PEPPER, I. L. Enumerating asymptomatic COVID-19 cases and estimating SARS-CoV-2 fecal shedding rates via wastewater-based epidemiology. **Science of the Total Environment**, Yuma, v. 801, dez. 2021.

SCHVOERER, E.; VENTURA, M.; DUBOS, O.; CAZAUX, G.; SERCEAU, R.; GOURNIER, N.; DUBOIS, V.; CAMINADE, P.; FLEURY, H. J. A.; LAFON, M. E. Qualitative and quantitative molecular detection of enteroviruses in water from bathing areas and from a sewage treatment plant. **Research in Microbiology**, Bordéus, v.152, p. 179-186, fev. 2001.

SILVA, A. **Avaliação experimental de pavimentos permeáveis e dimensionamento de sistema de drenagem urbana sustentável: estudo de caso da bacia do Canal do Congo – Vila Velha/ES**. 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Desenvolvimento Sustentável) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2021.

SILVA, H. D.; ANUNCIACÃO, C. E.; GARCÍAZAPATA, M. T. A. Avaliação de métodos de concentração e detecção molecular de adenovírus em águas não tratadas - uma metanálise. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**, Goiânia, v. 30, p. 65-71, fev. 2010.

SILVA, H. D.; ANUNCIACÃO, C. E.; SANTOS, S. F.; ZAPATA, M. T. A. G. Análise virológica da qualidade da água: uma revisão das metodologias de concentração e detecção viral. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 9, n. 3, p. 405-415, jul/set. 2011.

SILVA, P. I. S.; ORIENTE, S. F.; SILVA, N. J. C.; DO Ò, K. D. S.; SOUSA, J. T. Caracterização físico-química de efluente oriundo do tratamento anaeróbico e pós tratamento em filtro de areia de fluxo intermitente. In: I CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEIO AMBIENTE E SOCIEDADE, 2019, Campina Grande. **Anais I CONIMAS**. Campina Grande: Editora Realize, 2019. v. 1.

SIMS, N.; KASPRZYK-HORDERN, B. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. **Environment International**, Bath, v. 139, jun. 2020.

SINGH, S.; SAMANTA, J.; SURI, V.; BHALLA, A.; PURI, G. D.; SEHGAL, R.; KOCHHAR, R. Presence of diarrhea associated with better outcomes in patients with

COVID-19 – A prospective evaluation. **Indian Journal of Medical Microbiology**, Chandigarh, abr. 2022.

SOULE, H.; GENOULZ, O.; GRATACAP-CAVILLIER, B.; CHEVALLIER, P.; LIU, J.X. Ultrafiltration and reverse transcription-polymerase chain reaction: an efficient process for poliovirus, rotavirus and hepatitis A virus detection in water. **Water Research**, Grenoble, v. 34, n. 3, p. 1063-1067, fev. 2000.

URSULINO, B. S.; LIMA, M. D. M.; SILVA, P. B. A.; PINHEIRO, M. J. G.; LIMA, J. Q.; SANTOS, Y. T. C. Variação da alcalinidade ao longo do tratamento de esgoto. In: 65ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 2013, Recife. **65ª Reunião Anual da SBPC**. Recife: 2013.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2 ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 1998.

WANG, W.; XU, Y.; GAO, R.; LU, R.; HAN, K.; WU, G.; TAN, W. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. **The Journal of the American Medical Association**, Pequim, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, mar. 2020.

WANG, X.; WEI, J.; ZHU, R.; CHEN, L.; DING, F.; ZHOU, R.; GE, L.; XIAO, J.; ZHAO, Q. Contribution of CD4+ T cell-mediated inflammation to diarrhea in patients with COVID-19. **International Journal of Infectious Diseases**, Wuhan, v. 120, p. 1-11, abr. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Coronavirus disease (COVID-19) pandemic**, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Acesso em: 15 de julho de 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Novel coronavirus (2019-nCoV). Situation report –1**, 2020. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4. Acesso em: 10 de julho de 2022.

WU, Y.; GUO, C.; TANG, L.; HONG, Z.; ZHOU, J.; DONG, X.; YIN, H.; XIAO, Q.; TANG, Y.; QU, X.; KUANG, L.; FANG, X.; MISHRA, N.; LU, J.; SHAN, H.; JIANG, G.; HUANG, X. Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, Zhuhai, v. 5, n. 5, p. 434-435, mai. 2020.

WYN-JONES, A. P.; SELLWOOD, J. Enteric viruses in the aquatic environment. **Journal of Applied Microbiology**, Sunderland, v. 91, p. 945-962, jun. 2001.