

Vírus em esgoto: monitoramento como uma ferramenta de predição epidemiológica no saneamento ambiental. Um estudo de caso do SARS-CoV-2




Viruses in sewage: monitoring as an epidemiologic prediction tool in environmental sanitation. A SARS-CoV-2 case study





- **Data de entrada:**
20/04/2022
- **Data de aprovação:**
11/10/2022

Marina Santos Ázara¹ | Rodolfo Appoloni Crippa¹ | Laís Miguelina Marçal da Silva¹ |
Juliano Curi de Siqueira^{1*} | Bruna Coelho Lopes² | Ana Maria Moreira Batista³ |
Luciene Alves Batista Siniscalchi¹

DOI: <https://doi.org/10.36659/dae.2023.057>

ORCID ID

Ázara MS  <https://orcid.org/0000-0002-2056-5709>
Crippa RA  <https://orcid.org/0000-0002-8609-3302>
Silva LMM  <https://orcid.org/0000-0002-6366-810X>

Siqueira JC  <https://orcid.org/0000-0002-6346-8917>
Lopes BC  <https://orcid.org/0000-0002-6673-0191>
Batista AMM  <https://orcid.org/0000-0002-9836-267X>
Siniscalchi LAB  <https://orcid.org/0000-0001-7892-0112>

Resumo

O esgoto contém grande diversidade de microrganismos, incluindo patógenos como os vírus, sendo, portanto, um meio propício para identificação da circulação de doenças infectocontagiosas – técnica conhecida como wastewater-based epidemiology (WBE). A WBE se mostra uma poderosa ferramenta de saúde pública para rastrear e sinalizar a situação epidemiológica da população, visto que as partículas virais do SARS-CoV-2 podem ser expelidas nas fezes e urina dos contaminados antes mesmo do surgimento de sintomas e do diagnóstico clínico de COVID-19. Este estudo apresenta uma revisão de literatura sobre a presença de SARS-CoV-2 e outros vírus no esgoto doméstico e as possibilidades de remoção em estações de tratamento de esgoto (ETEs) convencionais e avançadas, bem como as técnicas de concentração e detecção em amostras ambientais. Ao final do artigo, foi apresentada uma análise econômica da aplicabilidade da WBE como instrumento de predição epidemiológica da COVID-19 em um município brasileiro.

Palavras-chave: Água residuária doméstica. Novo coronavírus. Pandemia de COVID-19. Monitoramento epidemiológico do esgoto. Virologia.

Abstract

Sewage contains a wide diversity of microorganisms, including pathogens such as viruses; therefore, it is a suitable medium for identifying the circulation of infectious diseases – a technique known as wastewater-based epidemiology (WBE). WBE is proving to be a powerful public health tool to track and indicate the population's epidemiological status, given that the viral particles of the SARS-CoV-2 may be released via feces and urine from those infected even before the onset of symptoms and clinical diagnosis of COVID-19. This study presents a literature review on the presence of SARS-CoV-2 and other viruses in sewage and the possibilities of removal in conventional and advanced sewage

¹ Universidade Federal de Lavras (UFLA) - Lavras - Minas Gerais - Brasil.

² Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Belo Horizonte - Minas Gerais - Brasil.

³ Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG) - João Monlevade - Minas Gerais - Brasil.

* **Autor correspondente:** julianocuri2015@gmail.com.

treatment plants (STPs), as well as concentration and detection techniques from environmental samples. At the end of the article, we presented an economic analysis of the applicability of WBE as a tool for epidemiological prediction of COVID-19 in a Brazilian municipality.

Keywords: Domestic wastewater. New coronavirus. COVID-19 pandemic. Wastewater-based epidemiology. Virology.

1 INTRODUÇÃO

Com o início da pandemia de COVID-19 pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2) em 2020, o monitoramento de vírus em estações de tratamento de esgoto (ETEs) tem ganhado força, uma vez que pode funcionar como forma de avaliar o potencial de transmissão, exposição, ocorrência e os possíveis impactos na saúde da população. Nessa perspectiva, as águas residuárias podem ser utilizadas como ferramentas de dados epidemiológicos, os quais podem dar suporte à criação e manutenção de medidas de mitigação de doenças infecciosas, como, por exemplo, a Iniciativa Global de Erradicação da Poliomielite (ASGHAR et al., 2014; ALI et al., 2021; LAHRICH et al., 2021).

Além do excesso de nutrientes e de material orgânico, as águas residuárias também apresentam em sua constituição uma grande variabilidade microbiológica, englobando vírus patogênicos humanos e zoonóticos (WANG et al., 2018). Esses patógenos entram nas redes coletoras de esgoto, pois estão presentes nas fezes e urina de humanos e animais, podendo-se citar os vírus causadores de hepatite A, poliovírus, rotavírus, adenovírus, coronavírus, dentre outros. Esses patógenos podem ser excretados inclusive na forma infecciosa, podendo causar contaminação e doenças. Por outro lado, se excretados na sua forma inativa ou apenas o material genético, não possuem potencial de infecção. Entretanto, as ETEs, em sua grande maioria, não são projetadas para a remoção de tais organismos (OLIVEIRA; VON SPERLING, 2005; PRADO et al., 2011; MACHADO et al., 2020; ROLLEMBERG et al., 2020).

A capacidade de sobrevivência dos vírus fora do corpo humano pode ser denominada como persistência ambiental, isto é, quanto maior for o tempo de sobrevivência do vírus, maiores são as chances de infecção (LAHRICH et al., 2021). Esse quesito está intimamente ligado às características do meio, como temperatura, umidade, pH, luz solar e o tipo de superfície (RZEŽUTKA; COOK, 2004; ROMERO et al., 2011; THEVENIN et al., 2013; ROLLEMBERG et al., 2020). Em relação à persistência em meios líquidos, de acordo com Oliveira et al. (2021), o SARS-CoV-2 é inativado em até 6,4 dias em contato com águas superficiais e em até 4 dias em esgoto, ambos a 24 °C. No entanto, pesquisas adicionais com o intuito de investigar a possibilidade de infecção humana por meio de águas contaminadas são necessárias (ELSAMADONY et al., 2021; TRAN et al., 2021). Ademais, o esgoto doméstico apresenta elevada variabilidade de características físicas, químicas e biológicas, o que pode influenciar no tempo de sobrevivência do vírus.

Os primeiros resultados que relataram a presença do material genético do SARS-CoV-2 em esgoto foram reportados na Holanda (MEDEMA et al., 2020), promovendo a execução de análises e estudos em outros países, como Israel (BAR-OR et al., 2020), Austrália (AHMED et al., 2020a), Turquia (KOCAMEMI et al., 2020), França (WURTZER et al., 2020), dentre outros. As pesquisas realizadas constataram uma linha de tendência entre a quantidade de genomas virais detectados no esgoto com o número de infectados. Logo, quanto maior o número de infecções, maior é a carga viral presente em ETEs – a concentração viral pode

chegar a aproximadamente 105 microrganismos por grama de fezes e 100 microrganismos a cada 100 mL de esgoto (ROLLEMBERG et al., 2020; WU et al., 2020a; ZHANG et al., 2020). Outros estudos reportaram a presença do RNA do SARS-CoV-2 em amostras de fezes de pacientes que já estavam curados (HOLSHUE et al., 2020; XIAO et al., 2020). Apesar de estudos alertarem sobre o potencial de transmissão secundária através do esgoto (LIU et al., 2020; DHAMA et al., 2021; GHOLIPOUR et al., 2021; CHU et al., 2022), é importante ressaltar que a presença do material genético do novo coronavírus nas fezes humanas ou no esgoto não sugere necessariamente a transmissão ou infecção (ALI et al., 2021; LAHRICH et al., 2021).

Em relação aos testes diagnósticos individuais para COVID-19, devido ao custo elevado para realizar a testagem em massa – cada teste pode chegar a custar mais de US\$ 200 nos EUA (DU et al., 2021; KURANI et al., 2021) –, há dificuldade no rastreamento das rotas de contaminação do novo coronavírus em uma população (LAHRICH et al., 2021). Além disso, existe a possibilidade de ocorrência de resultados falsos negativos para a doença, principalmente em pessoas assintomáticas ou que apresentem baixa carga viral no organismo (WOLOSHIN et al., 2020; KANJI et al., 2021). Por isso, é fundamental a adoção de métodos alternativos e ao mesmo tempo eficazes para o monitoramento do SARS-CoV-2, permitindo assim uma tomada de decisão célere e pausada numa testagem “massiva” da população.

Uma vez que as partículas virais do novo coronavírus podem ser expelidas nas fezes e urina dos contaminados antes mesmo do surgimento de sintomas e do diagnóstico clínico de COVID-19, os dados obtidos durante a análise desses vírus em águas residuárias podem ser utilizados como indicadores úteis, permitindo a adoção de me-

didadas que visem à diminuição de casos de contaminação pelas autoridades sanitárias. A partir do monitoramento epidemiológico de esgoto (do inglês *wastewater-based epidemiology* (WBE)), é possível avaliar a circulação do SARS-CoV-2 entre as populações, além de a técnica desempenhar a função de monitoramento precoce, antecipando e alertando um aumento súbito de incidência de casos de COVID-19 numa determinada localidade (LODDER; DE RODA HUSMAN, 2020; SIMS; KASPRZYK-HORDERN, 2020).

Países emergentes, como o Brasil, muitas vezes não contam com redes coletoras de esgoto abrangentes em suas cidades ou municípios, o que seria fundamental para uma avaliação epidemiológica precisa. Desse modo, investimentos nos sistemas de saneamento básico urbanos podem ser traduzidos em novas possibilidades de acompanhamento e monitoramento da saúde pública da população. Portanto, estudos que apontam os benefícios da WBE são essenciais para incentivar e nortear projetos de implementação da ferramenta pelos órgãos sanitários e de saúde responsáveis.

Com base nesse contexto, este artigo apresenta uma revisão de literatura sobre a presença de SARS-CoV-2 e outros vírus em esgotos domésticos e as técnicas de inativação/remoção desses patógenos nas ETEs (Fig. 1), bem como os métodos de concentração viral em amostras de esgoto e detecção/quantificação para análise do material genético. Ao final, foi proposto um estudo de caso acerca dos principais benefícios e desafios no que se refere à inserção do monitoramento do SARS-CoV-2 em esgotos como forma de predição da COVID-19 em um município brasileiro, com foco na comparação financeira entre a testagem individual da população e o monitoramento do esgoto bruto em pontos estratégicos de amostragem.



Figura 1 - Rota do SARS-CoV-2 nas ETEs e as vias de transmissão de doenças de veiculação hídrica. A WBE é uma ferramenta epidemiológica de baixo custo que pode fornecer suporte para o monitoramento precoce dos casos de COVID-19

Fonte: Elaboração própria.

2 VÍRUS NO ESGOTO

Vírus são partículas pequenas ($< 0,2 \mu\text{m}$) compostas por material proteico (DNA, RNA ou ambos) com capacidade de infectar organismos vivos. São considerados parasitas intracelulares obrigatórios, ou seja, a replicação desses microrganismos depende do controle da capacidade de autorreprodução da célula. O material genético do vírus está sempre envolto por uma cápsula proteica (capsídeo), formando o nucleocapsídeo. Alguns vírus são formados apenas por nucleocapsídeo, enquanto outros possuem ainda um envoltório ou envelope externo. Esses últimos são denominados vírus encapsulados ou envelopados (GELDERBLUM, 1996).

Os vírus são partículas coloidais que apresentam cargas elétricas em sua superfície, podendo ser adsorvidos a partículas presentes em diferentes tipos de ambientes. A interação que ocorre entre os vírus e as partículas sólidas é relevante para o entendimento do comportamento desses parasitas, proporcionando dados importantes para a adoção de técnicas que visem à sua eliminação (LAHRICH et al., 2021). Alguns estudos demonstraram que os vírus envelopados têm uma capacidade maior de adsorção a frações sólidas quando comparados com os vírus não envelopados, sendo que os sólidos suspensos podem auxiliar na proteção dos vírus

contra a inativação (GUNDY et al., 2009; SCHAR et al., 2013; BARRETT et al., 2016; YE et al., 2016; RUSIÑOL et al., 2020).

Muitos países destinam as águas residuárias brutas ou tratadas para a fertirrigação e lodos/biossólidos gerados durante o tratamento como fertilizantes em seus campos agrícolas. No Brasil, por exemplo, há normatizações que definem critérios e procedimentos para uma aplicação segura de tais práticas, tais como as resoluções CONAMA nº 498/2020 e nº 503/2021 (BRASIL, 2020; 2021). No entanto, os patógenos que estão presentes nesses subprodutos líquidos ou sólidos são depositados diretamente na espécie vegetal e no solo, podendo-se gerar um risco para a saúde pública e para o meio ambiente caso lançados em desconformidade com os órgãos sanitários responsáveis (LAHRICH et al., 2021).

Dentre os patógenos encontrados no esgoto ou em lodos/biossólidos, os vírus entéricos demandam atenção em virtude da resistência a diferentes condições ambientais. A inexistência de camada lipídica externa e estrutura de simetria icosaédrica são características preponderantes que conferem aos vírus entéricos boa adaptabilidade e persistência por longos períodos quando submetidos a baixas temperaturas e a uma ampla faixa de pH (3,0–10,0) (KOCWA-HALUCH,

2001; THONGPRACHUM et al., 2018). Ademais, há em sua superfície a presença de proteínas S devidamente ancoradas, tendo como principal objetivo a proteção da infectividade do vírus (YE et al., 2016; ROLLEMBERG et al., 2020). Eventualmente, caso essas proteínas sejam alteradas, a infectividade e sobrevivência podem ser extintas (LAHRICH et al., 2021). Segundo Kosarewicz et al. (1999), a infectividade de *Poliovirus*, *Coxsackievirus* e *Echovirus* foi mantida por até 6 meses sob temperaturas de 4 a 10 °C.

Vírus entéricos provocam doenças graves, causando uma série de sintomas intestinais, respiratórios, conjuntivos e também acarretam infecções hepáticas (KITAJIMA et al., 2020). Pertencentes a diversas classes taxonômicas, eles se apresentam em grandes concentrações no esgoto e, caso não haja saneamento básico apropriado ou um sistema de tratamento que remova ou inative totalmente esses microrganismos, o risco de infecções por transmissão fecal-oral é potencializado (PRADO; MIAGOSTOVICH, 2014). Os principais vírus causadores de doenças de veiculação hídrica – por transmissão fecal-oral – são os vírus de hepatite A, vírus da poliomielite, vírus *Norwalk*, rotavírus, astrovírus, parvovírus, adenovírus e calcivírus (LAVERICK et al., 2004; HELLMÉR et al., 2014; WANG et al., 2018).

As famílias de vírus entéricos usualmente reportadas na literatura por meio de monitoramentos epidemiológicos são Astroviridae, Caliciviridae, Hepeviridae, Papillomaviridae, Picobirnaviridae, Picornaviridae, Reoviridae, Adenoviridae, Anelloviridae e Parvoviridae (YANG et al., 2021). Com relação aos gêneros, os de recorrente detecção no esgoto são *Norovirus*, *Hepatovirus*, *Hepevirus*, *Alphatorquevirus*, *Adenovirus*, *Astrovirus*, *Sapovirus*, *Bocavirus*, *Parechovirus*, *Enterovirus*, *Salivirus*, *Rotavirus*, *Kobuvirus* e *Polyomavirus* (CASAS; SUNÉN, 2002; KAMEL et al., 2011; PRADO; MIAGOSTOVICH, 2014; IBRAHIM et al., 2017; THON-

PRACHUM et al., 2018; DI PROFIO et al., 2019; LEVICAN et al., 2019).

O esgoto bruto contém, além dos vírus entéricos, microrganismos de todos os domínios filogenéticos e também outros tipos de vírus (mimivírus, coronavírus, reovírus e poliovírus) (CHATTERJEE et al., 2016; DI PROFIO et al., 2019; ALI et al., 2021). A baixa eficiência de remoção de patógenos nas ETEs convencionais, as quais não são projetadas para esse propósito em particular (ver detalhes na Seção 3), somada ao alto potencial de bioacumulação desses microrganismos, fizeram com que a comunidade científica voltasse a atenção para patógenos específicos com alto impacto socioambiental, os denominados patógenos emergentes.

Ao final de 2019, o grupo de patógenos emergentes ganhou mais um integrante de destaque, o *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2, também chamado de novo coronavírus), que é um vírus envelopado, com genoma constituído de fita simples de RNA, e que pode causar infecção respiratória aguda denominada COVID-19 (HU et al., 2021). Apresenta similaridade genética com o SARS-CoV – aproximadamente 82% – e ambos são integrantes da família Coronaviridae e do gênero β (CHAN et al., 2020; FORSTER et al., 2020; ROLLEMBERG et al., 2020; WAN et al., 2020).

A principal forma de contaminação pelo novo coronavírus ocorre a partir da inalação de partículas virais provenientes de espirros e tosses (WHO, 2020b; LAHRICH et al., 2021). É possível que haja ainda a contaminação por fômites e mãos, principalmente por meio de contatos pessoais e com objetos ou superfícies contaminadas, apesar de o risco ser consideravelmente mais baixo se comparado à contaminação pela via respiratória (CDC, 2021; GONÇALVES et al., 2021; CHU et al., 2022). O SARS-CoV-2 invade as células humanas através da enzima conversora de angiotensina 2

(ACE2, do inglês *angiotensin-converting enzyme 2*), que funciona como receptor. Essas enzimas estão localizadas no epitélio respiratório inferior e nas células da mucosa do intestino delgado do corpo humano (CESPEDES; SOUZA, 2020).

Diferentemente das doenças de veiculação hídrica tradicionais, o novo coronavírus pode ser introduzido no esgoto, além das vias fecais e urinárias, por secreções respiratórias de indivíduos contaminados (WANG et al., 2018; ALI et al., 2021). Rapidamente, esse vírus de RNA se espalhou e pôde ser detectado no esgoto de países como Austrália, China, França, Japão, Itália, Espanha, Holanda, EUA, Turquia, Índia, Arábia Saudita, Cazaquistão e Brasil (BHATT et al., 2020; COLLIVIGNARELLI et al., 2020). Apesar da via de transmissão prioritária do vírus ocorrer por meio de gotículas respiratórias e do contato com pessoas/objetos contaminados, estudos alertam sobre o potencial de transmissão secundária através do esgoto (LIU et al., 2020; DHAMA et al., 2021). Contudo, cabe ressaltar que a presença do material genético de SARS-CoV-2 no esgoto não sugere necessariamente a viabilidade de transmissão ou infecção humana (ALI et al., 2021; LAHRICH et al., 2021).

A sobrevivência dos coronavírus em água e esgotos depende de vários parâmetros, tais como temperatura, pH, tempo de retenção, matéria orgânica, exposição à luz e presença de organismos aeróbios (ACHAK et al., 2021; FOLADORI et al., 2022). Em geral, em áreas sob maior exposição à luz e temperaturas mais elevadas, a capacidade de sobrevivência de vírus envelopados diminui. Além disso, em comparação aos vírus não envelopados, são mais susceptíveis à inativação em esgotos, haja vista a presença de solventes, detergentes e desinfetantes no meio, substâncias que podem comprometer rapidamente o envelope lipídico ou as proteínas que constituem a camada superficial desses organismos (CASA-

NOVA et al., 2009; WIGGINTON et al., 2015; YE et al., 2016; CORPUZ et al., 2020).

Em contrapartida, a matéria orgânica em suspensão pode fornecer a esses microrganismos abrigo contra a luz, afetar o comportamento de sedimentação e influenciar o coeficiente de difusão viral, resultando, potencialmente, na formação de aglomerados virais (CORPUZ et al., 2020; ACHAK et al., 2021). Wang et al. (2005) avaliaram a persistência do SARS-CoV em fezes, urina, esgoto e água residuária hospitalar, e os resultados demonstraram que o vírus persistiu por dois dias nas águas residuárias (hospitalar e doméstica), três dias nas fezes e dezessete dias em amostras de urina a 20 °C. No entanto, a 4 °C, o SARS-CoV persistiu por até quatorze dias nos efluentes avaliados e cerca de dezessete dias na urina (WANG et al., 2005). Quanto ao SARS-CoV-2, esse vírus tem se mostrado estável numa ampla faixa de pH (de 3 a 10), o que pode favorecer também sua sobrevivência em esgotos (BHATT et al., 2020; CORPUZ et al., 2020).

Sob essa ótica, as ETEs podem ser potenciais pontos de disseminação de SARS-CoV-2. As tubulações de coleta e transporte de esgoto conduzem os microrganismos presentes na água residuária às ETEs, podendo ocorrer a liberação de gases gerados em algumas etapas do processo de depuração, além da movimentação turbulenta do esgoto nas tubulações. Os aerossóis gerados podem conter microrganismos patogênicos que, caso ativos, representam riscos à saúde humana (KITAJIMA et al., 2020; GWENZI, 2021). Dessa forma, os operadores das ETEs possuem maiores chances de contaminação, uma vez que estão diretamente expostos aos patógenos presentes no ar (GORMLEY et al., 2020; ROLLEMBERG et al., 2020; ELSAMADONY et al., 2021; THAKUR et al., 2021).

Gholipour et al. (2021), por exemplo, detectaram a presença de RNA de SARS-CoV-2 em 40% das amostras de ar coletadas em ETEs de Isfahan, Irã,

ao longo de períodos de pico de contaminação de COVID-19 pela população local. Ademais, os autores estimaram um risco de infecção relativamente alto de até $2,3 \times 10^{-2}$ por pessoa por ano (GHOLIPOUR et al., 2021). Portanto, ainda que o potencial infectivo dos aerossóis dispersados nas etapas de tratamento não seja um consenso científico, as ETEs devem ser consideradas como prováveis fontes de transmissão secundária de SARS-CoV-2 (ARSLAN et al., 2020; HAJI ALI et al., 2021; GHOLIPOUR et al., 2021; CHU et al., 2022).

3 MECANISMOS DE REMOÇÃO NO TRATAMENTO CONVENCIONAL E AVANÇADO DE ESGOTO

Os processos convencionais de tratamento de esgoto apresentam uma baixa eficiência quanto à remoção de organismos patogênicos, uma vez que as ETEs tradicionais não são projetadas especificamente para esse fim (BHATT et al., 2020). No Brasil, a maior parte das ETEs atingem até o nível secundário de tratamento, no qual predominam mecanismos biológicos de remoção de poluentes e objetiva-se principalmente a remoção de matéria orgânica e, em menor quantidade, nutrientes (VON SPERLING, 2014).

Normalmente, os níveis primário e secundário de tratamento não são eficientes para remoção de vírus em esgoto, seja pela impossibilidade de separação física entre as partículas virais e a fase líquida, seja pela dificuldade de desnaturação de genomas virais e proteínas extracelulares (LI et al., 2022). Por outro lado, uma redução significativa de carga viral pode ser alcançada em sistemas terciários ou avançados de tratamento (JORDÃO; PESSÔA, 2016; LI et al., 2022).

Nesse sentido, diferentes técnicas têm sido aplicadas para a remoção de SARS-CoV-2 do esgoto, incluindo processos físicos, como sedimentação e filtração em membranas; e químicos e bioquímicos que resultam na inativação do vírus, como

desinfecção por radiação ultravioleta (UV) ou agentes oxidantes como cloro e ozônio, e degradação enzimática (ZHANG et al., 2021). Outras tecnologias efetivas na remoção de SARS-CoV-2 do esgoto incluem filtração por osmose reversa, adsorção em carvão ativado, coagulação-floculação à base de zircônio, quitosana ou cloreto de polialumínio, e oxidação por UV/H₂O₂ ou foto-Fenton (ACHAK et al., 2021; ESPINOSA et al., 2021; LI et al., 2022).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) indica que processos de desinfecção simples como a cloração podem inativar rapidamente o SARS-CoV-2 (WHO, 2020a). Wang et al. (2020), por exemplo, sugeriram que as tecnologias de desinfecção adotadas durante a epidemia de SARS (2002–2004) poderiam ser usadas como referência para a inativação do SARS-CoV-2 em efluentes hospitalares, devido às semelhanças entre o SARS-CoV e o SARS-CoV-2. Os vírus SARS podem ser inativados em exposição a pelo menos 0,5 mg L⁻¹ de cloro livre residual ou de 2,19 mg L⁻¹ de dióxido de cloro residual durante 30 minutos a 20 °C (ACHAK et al., 2021).

Em outra perspectiva, a aplicação do processo de ozonização na desinfecção tem se mostrado uma alternativa eficiente para a remoção de vírus em tratamentos de água e esgotos (KIM et al., 1999; FERREIRA FILHO, 2017). Isso porque o ozônio é um agente oxidante extremamente reativo, que pode provocar uma mudança na conformação das proteínas do capsídeo viral, promovendo a lise do envoltório proteico (SHANNON et al., 2008). Como o envelope viral é vulnerável à oxidação química, a inativação do SARS-CoV-2 por ozonização também pode ser mais eficiente do que em vírus entéricos (KUMAR et al., 2021a). Apesar da elevada eficiência, a sua aplicação em tratamento de esgotos é menos usual por tornar o sistema de tratamento consideravelmente mais oneroso (VON SPERLING, 2014; BHATT et al., 2020).

Quanto à avaliação de sistemas de tratamento em escala plena, Arora et al. (2020) avaliaram sistemas de tratamento biológicos seguidos ou não por tratamento terciário na remoção de SARS-CoV-2 em ETEs municipais de diversas localidades de Jaipur, Índia, sendo eles: reator de biofilme de leito móvel seguido de desinfecção por cloro ou UV e reator de sequenciamento em lote seguido ou não por desinfecção com cloro. Os sistemas avaliados se mostraram eficientes na remoção de RNA de SARS-CoV-2 em efluentes sanitários terciários, uma vez que, diferentemente dos esgotos não tratados, houve redução de partículas virais abaixo do limite de detecção. O estudo destacou a eficácia do hipoclorito de sódio, bem como de outros compostos à base de cloro, na inativação ou atenuação do SARS-CoV-2, que apresentou sucesso na desestabilização do envelope viral (ARORA et al., 2020).

Kumar et al. (2021b) também verificaram a redução de RNA de SARS-CoV-2 abaixo do limite de quantificação em esgoto pós-tratado por uma ETE municipal de Ahmedabad, Índia, composta por tratamento primário, seguido de reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*upflow anaerobic sludge blanket (UASB)*), tanque de aeração e lagoa de polimento. Foi observada diminuição gradual do vírus ao longo das unidades, indicando que algumas configurações de sistemas de tratamento convencionais podem ser eficientes na remoção de SARS-CoV-2 de esgoto, como reatores UASB, com reduções de pelo menos 1,3 log. O estudo apontou ainda que o reator UASB avaliado, operando com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 20 d, aumentou a deterioração da carga genética de SARS-CoV-2 em pelo menos 1,3 log (KUMAR et al., 2021).

Em contraste, Foladori et al. (2022) verificaram reduções em cargas de CoVs e SARS-CoV-2 de, no máximo, 1,0 log (~90%) em sistemas de lodos ativados convencionais. Desse modo, os autores destacaram a necessidade de um tratamento

terciário após esses sistemas para potencializar a remoção desses vírus (FOLADORI et al., 2022). Em outra pesquisa, Serra-Compte et al. (2021) avaliaram 16 ETEs (8 na França e 8 na Espanha), compostas por unidades primárias, secundárias (sistemas de lodos ativados e biorreatores de membrana) e algumas com tratamento terciário (como micro e ultrafiltração, desinfecção com UV e cloração). A configuração das ETEs contendo tratamento primário e secundário eliminou 76,7% do RNA de SARS-CoV-2. Dessa remoção, uma parte significativa foi atribuída ao tratamento primário que obteve remoção de 60%. Enquanto isso, nas ETEs com unidades terciárias, não houve detecção de RNA de SARS-CoV-2 no efluente (SERRA-COMPTE et al., 2021).

Paralelamente, Wang et al. (2022a) avaliaram a remoção de SARS-CoV-2 em uma ETE no Japão composta por três sistemas paralelos seguidos por cloração (lodos ativados, reator anaeróbio-anóxico-óxico (A2O) e biorreator de membrana). Houve reduções de SARS-CoV-2 de $2,7 \pm 0,86$ log no sistema de lodos ativados; $1,6 \pm 0,50$ log no A2O; e $3,6 \pm 0,62$ log no biorreator de membrana. Durante o período de amostragem, foi observado um desempenho mais estável do biorreator de membrana na remoção do vírus. No efluente final de todas as unidades, após a cloração, a carga de RNA do SARS-CoV-2 ficou abaixo do limite de detecção (10 cópias L^{-1}) (WANG et al., 2022a).

Outras técnicas para remoção do SARS-CoV-2 em esgotos também têm sido exploradas como, por exemplo, a ficorremediação. A ficorremediação envolve a utilização de micro ou macroalgas na remoção de contaminantes presentes em resíduos sólidos, líquidos ou gasosos (BHATT et al., 2020). Nesse aspecto, Zhang et al. (2021) investigaram a remoção de SARS-Cov-2 em um sistema biohíbrido composto por microrrobôs ativos associados a algas e verificaram remoção de 95% da proteína de pico viral do SARS-CoV-2, além de 89% de re-

moção de pseudovírus. Esses resultados sugerem que algas funcionalizadas podem ser promissoras na remoção de vírus em esgotos.

Outro ponto que deve ser destacado é a afinidade observada entre o SARS-CoV-2 e biossólidos ou lodos de sistemas de tratamento de esgoto. Isso porque vírus envelopados, em virtude da bicamada lipídica que circunda o capsídeo proteico, apresentam maior tendência de se adsorverem em partículas sólidas e/ou coloidais (CORPUZ et al., 2020; ESPINOSA et al., 2021; PECCIA et al., 2020). De acordo com Balboa et al. (2021), foram observadas uma maior concentração viral e uma maior estabilidade de SARS-CoV-2 em lodos primários e/ou espessados do que em relação aos resultados verificados no efluente líquido. Desse modo, há indicativos de que lodos e/ou biossólidos também podem ser utilizados no monitoramento da incidência de COVID-19.

Quanto às técnicas de tratamento de resíduos sólidos provenientes de ETEs, Foladori et al. (2022) relataram que a aplicação de digestão anaeróbia sob condições termofílicas (~55 °C) pode inativar significativamente os CoVs e SARS-CoV-2 de lodos/biossólidos. Em contrapartida, sistemas anaeróbios operando sob temperaturas mesofílicas (33–37 °C), assim como técnicas como espessamento, não se mostraram eficientes para este fim (SERRA-COMPTE et al., 2021; FOLADORI et al., 2022). De forma a atingir a eliminação completa de SARS-CoV-2 de lodos/biossólidos tratados em reatores anaeróbios mesofílicos, a aplicação prévia do processo de hidrólise térmica tem garantido resultados satisfatórios (BALBOA et al., 2021; SERRA-COMPTE et al., 2021).

4 TÉCNICAS DE RECUPERAÇÃO/ CONCENTRAÇÃO

A tipologia da matriz amostral implica em adequações nos métodos analíticos de detecção

e quantificação de patógenos. Em comparação com outras amostras ambientais, o esgoto afluente às ETEs apresenta turbidez superior e maiores concentrações de vírus, sólidos suspensos, matéria orgânica, ácidos húmicos e metais pesados, o que pode interferir na precisão das técnicas, tais como as de base molecular (CORPUZ et al., 2020; WANG et al., 2022b).

Atualmente, a maior parte dos métodos utilizados para concentração de vírus em águas residuárias não é aplicável a grandes volumes de amostra, tendo em vista a baixa concentração viral, a *co-concentration* de inibidores da Polymerase Chain Reaction (PCR, ou reação em cadeia da polimerase), a presença de sólidos suspensos, além dos custos e logística (CUEVAS-FERRANDO et al., 2021). Ainda assim, autores como McMinn et al. (2021), por exemplo, têm direcionado suas pesquisas no sentido de validar métodos de concentração em larga escala e obtido resultados promissores.

No intuito de concentrar os vírus em volumes adequados aos métodos de detecção (ver Seção 5) e amenizar as interferências ambientais, faz-se necessária a aplicação de etapas de concentração com a utilização de métodos primários e secundários, os quais permitem a detecção de fragmentos moleculares de material genético viral (DNA ou RNA) na amostra de esgoto. O emprego de técnicas que garantam eficientes taxas de recuperação viral é essencial para viabilizar, por exemplo, uma aplicação precisa e bem-sucedida da WBE, ferramenta de vigilância epidemiológica que será discutida e analisada na Seção 6.

De acordo com a literatura, os métodos de concentração e recuperação costumam ser problemáticos, podendo causar perda considerável de partículas virais durante a execução da técnica (RUSIÑOL et al., 2020). Somado a isso, alguns microrganismos não conseguem ser avaliados adequadamente em vista de sua estru-

tura, a exemplo dos vírus envelopados (como o SARS-CoV-2), sendo necessária a utilização de substitutos entéricos para os quais já existem métodos validados (IBRAHIM et al., 2022; HAO et al., 2022; ZAMHURI et al., 2022).

Os métodos de concentração de vírus mais aplicados a amostras de águas superficiais são: filtração em membrana eletronegativa, precipitação com polietilenoglicol (PEG), ultrafiltração e ultracentrifugação (BOFILL-MAS; RUSIÑOL, 2020; MORESCO et al., 2022). Como exemplo, Fonseca et al. (2022) avaliaram quatro metodologias distintas (membrana eletronegativa + $MgCl_2$, precipitação com $Al(OH)_3$, precipitação com PEG e ultrafiltração) combinadas com centrifugação ou filtração prévias e obtiveram eficiências de concentração de SARS-CoV-2 entre 2,4–100% em amostras de águas superficiais e 3,5–100% em águas residuárias.

Para águas residuárias, a floculação por adição de cloreto/hidróxido de magnésio ou alumínio associada à precipitação com PEG e adsorção em membrana eletropositiva/eletronegativa tem sido uma combinação de técnicas amplamente aplicada (CALGUA et al., 2013; BOFILL-MAS; RUSIÑOL, 2020; CORPUZ et al., 2020; CUEVAS-FERRANDO et al., 2021; ZHENG et al., 2022; ZAMHURI et al., 2022; TORII et al., 2022). Outros estudos combinam a precipitação com PEG com técnicas como filtração em lã de vidro, ultrafiltração, filtração eletropositiva/eletronegativa ou ultracentrifugação para recuperação de material genético de SARS-CoV-2 em amostras de água e fezes humanas (CUEVAS-FERRANDO et al., 2021; TORII et al., 2022.; WANG et al., 2022b). Na Tabela 1 são apresentadas algumas das técnicas mais comuns de concentração de vírus em águas residuárias, bem como as ta-

xas de recuperação reportadas em pesquisas e revisões previamente realizadas.

Uma das técnicas comumente utilizadas atualmente para recuperação de vírus em amostras ambientais é a filtração em membrana eletro-negativa. A aplicação desse método, além de ser considerada de baixo custo e de elevada eficiência, permite a passagem de grandes volumes de líquido com alta turbidez pelo filtro antes de colmatá-lo, sendo especialmente indicada para amostras de esgoto doméstico. Em contrapartida, Cashdollar e Wymer (2013) apontam a necessidade de pré-filtração da amostra como principal desvantagem do método.

Sob a premissa da facilidade de padronização, processamento simultâneo de amostras em massa e aperfeiçoamento da precisão dos métodos analíticos, novas técnicas consideradas promissoras são desenvolvidas, tais como filtração/cromatografia monolítica e novos métodos de ultrafiltração, ultracentrifugação e eluição em tampão glicina seguida de floculação orgânica em leite desnatado (CALGUA et al., 2013; BOFILL-MAS; RUSIÑOL, 2020; AHMED et al., 2021a, PHILO et al., 2021; ZHENG et al., 2022).

Embora a metodologia PEG tenha apresentado resultados acima de 50% na recuperação do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto doméstico não tratado (Tabela 1), os dados quantitativos reportados na literatura indicam que a eficiência de concentração e recuperação do vírus CoV humano não tende a ultrapassar 40% de sucesso. Por outro lado, as eficiências de recuperação do vírus substituto ao CoV humano (vírus da hepatite murina – MHV) geralmente tendem a ser superiores (~65%) às dos demais vírus avaliados (AHMED et al., 2020b).

Tabela 1 - Técnicas de concentração e recuperação de vírus em águas residuárias

| Metodologia | Tratamento | Vírus | Taxa de recuperação viral | Referência |
|---|---|----------------------|------------------------------|------------------------------|
| Adsorção-Extração | Preacidificação + Membrana eletronegativa | MHV | 26,7% | AHMED et al. (2020b) |
| | MgCl ₂ + Membrana eletronegativa | MHV | 65,7% | IBRAHIM et al. (2021) |
| | Membrana eletronegativa | MHV | 60,5% | AHMED et al. (2020b) |
| | Membrana eletronegativa + MgCl ₂ | MHV | 65,7% | AHMED et al. (2020b) |
| | | B CoV | 17,3% | JUEL et al. (2021) |
| | | B CoV | 4,8% | GONZALEZ et al. (2020) |
| | | EV | 3,6-4,8% | AHMED et al. (2021a) |
| | | Hadv 40/41 | 6,3-6,5% | AHMED et al. (2021a) |
| | | Bacteriófago MS2 | 31,6% | WANG et al. (2022b) |
| | | SARS-CoV-2 | 0,7%-8,5% | ZHENG et al. (2022) |
| | Compostos à base de Alumínio (AlCl ₃ e Al(OH) ₃) + Centrifugação | SARS-CoV-2 | 7-26% | AHMED et al. (2021a) |
| | | MgV | 0,02-4,3% | RANDAZZO et al. (2020a) |
| | | MgV | 6,8% | PÉREZ-CATALUÑA et al. (2021) |
| | | SARS-CoV-2 | 30,2% | PÉREZ-CATALUÑA et al. (2021) |
| Membrana eletropositiva + Eluição com PEG | SARS-CoV-2 | 1,6%-17,1% | ZHENG et al. (2022) | |
| | Bacteriófago MS2 | 24% | WANG et al. (2022b) | |
| Ultrafiltração | Pipeta de Concentração Automática (CP Select™) | MHV | 7,5% | FORÉS et al. (2021) |
| | | MHV | 25% | AHMED et al. (2020b) |
| | | B CoV | 36,8% | JUEL et al. (2021) |
| | | B CoV | 5,5% | GONZALEZ et al. (2020) |
| | | EV | 4,8-5,7% | AHMED et al. (2021a) |
| | | Hadv 40/41 | 3,4-4,9% | AHMED et al. (2021a) |
| | | HCoV-OC43 | 22% | MCMINN et al. (2021) |
| | Bacteriófago MS2 | 27,7% | FORÉS et al. (2021) | |
| | | 51% | RUSIÑOL et al. (2020) | |
| | Centricon® Plus-70 | MHV | 28% | AHMED et al. (2020b) |
| | | MHV | 24,1% | FORÉS et al. (2021) |
| | | HCoV-OC43 | 1% | PHILO et al. (2021) |
| | | SARS-CoV-2 | 3,5-13% | ZHENG et al. (2022) |
| | Amicon® Ultra-15 | Bacteriófago MS2 | 26,3% | FORÉS et al. (2021) |
| MHV | | 56% | AHMED et al. (2020b) | |
| SARS-CoV-2 | | 6,5-17,5% | ZHENG et al. (2022) | |
| Ultracentrifugação | 100,000 xg por 60 min / 12,000 xg por 15 min | MHV | 35,5% | AHMED et al. (2021b) |
| | | MHV | 33,5% | AHMED et al. (2020b) |
| | 100,000 xg durante 60 min / 150,000 xg durante 60 min / 150,000 xg durante 90 min | SARS-CoV-2 | 20,5-33,4% | ZHENG et al. (2022) |
| | | SARS-CoV-2 | 12% | YAO et al. (2021) |
| | | SARS-CoV-2 | | WILDER et al. (2021) |
| Floculação-precipitação | MgCl ₂ | SARS-CoV-2 | 6,1-23,8% | ZHENG et al. (2022) |
| | AlCl ₃ | SARS-CoV-2 | 4,9-14,8% | ZHENG et al. (2022) |
| | Al(OH) ₃ | MgV e PEDV | 11% | RANDAZZO et al. (2020a) |
| | PEG + NaCl | SARS-CoV-2 | 5,8-23,6% | ZHENG et al. (2022) |
| | Leite desnatado | HAdv | 30-95% | CALGUA et al. (2013) |
| | | JCPyV | 55-90% | CALGUA et al. (2013) |
| | | NoV GGII | 45-90% | CALGUA et al. (2013) |
| | | HCoV-OC43 | 9,1% | PHILO et al. (2021) |
| | | Bacteriófago MS2 | 29% | RUSIÑOL et al. (2020) |
| | Precipitação com Polietilenoglicol (PEG) | MHV | 44% | AHMED et al. (2020b) |
| | | | 0,1-2,6% | TORII et al. (2022) |
| | | PEDV | 27,5-43,5% | PÉREZ-CATALUÑA et al. (2021) |
| | | HCoV-OC43 | 3,2% | PHILO et al. (2021) |
| | | | 57% | ALEXANDER et al. (2020) |
| SARS-CoV-2 | | 52,8% | PÉREZ-CATALUÑA et al. (2021) | |
| SARS-CoV-2 | 27,5-56,7% | SAPULA et al. (2021) | | |

Legenda: BCoV = coronavírus bovino; EV = enterovírus; HAdv = adenovírus humano; H1N1 = vírus da influenza A; JCPyV = poliomavírus JC; MHV = vírus da hepatite murina; NoV GGII = norovírus do genogrupo II; HCoV-OC43 = betacoronavírus; PEDV = vírus da diarreia epidêmica porcina; RV-A = rotavírus; SARS-CoV = coronavírus da síndrome respiratória aguda grave; SARS-CoV-2 = coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave.

5 MÉTODOS DE DETECÇÃO

O procedimento de caracterização biológica da amostra de esgoto é uma das etapas primordiais da WBE (COLLIVIGNARELLI et al., 2020). A sensibilidade, a especificidade e a automação são pré-requisitos implícitos aos métodos de detecção dos vírus em águas residuárias que, adicionalmente, estão sujeitos aos desafios de diluição da amostra, influência da matriz ambiental nos resultados analíticos, variabilidade mutagênica dos vírus e quantidade de microrganismos amostrada (LAHRICH et al., 2021). A precisão na detecção está significativamente atrelada ao volume da amostra, à eficácia de extração do ácido nucleico e à pureza do material extraído (CORPUZ et al., 2020), o que reflete a importância da etapa de concentração/recuperação viral da matriz ambiental discutida na seção anterior.

A seguir são elencados alguns métodos que inicialmente são empregados no diagnóstico clínico e sofreram adaptações para análise microbiológica de vírus em amostras ambientais: PCR, *Real Time Quantitative PCR* (qPCR, ou PCR quantitativa em tempo real), *Reverse Transcriptase Quantitative PCR* (RT-qPCR, ou reação da transcriptase reversa seguida pela qPCR), *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA), *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification* (NASBA), microscopia de fluorescência, técnica de microarranjos e citometria de fluxo (PILEVAR et al., 2021).

Tais métodos fornecem informações distintas (qualitativas e quantitativas) sobre a presença dos vírus e se juntam aos demais métodos de detecção e quantificação reportados na literatura: adsorção em membrana eletronegativa, sequenciamento de ácidos nucleicos, eletroforese em gel de campo pulsado, microscopia eletrônica de transmissão, meios de cultura, microscopia de força atômica, biosensores e métodos moleculares (BHATT et al., 2020; CORPUZ et al., 2020; HARAMOTO et al., 2020; LAHRICH et al., 2021; PILEVAR et al., 2021). Os métodos moleculares

são baseados na determinação do número de fragmentos específicos do material genético viral, ao passo que os métodos imunológicos e de cultivo são aplicados no estudo de viabilidade do vírion (ALI et al., 2021).

As técnicas de PCR têm sido mais utilizadas na avaliação de amostras de água e esgoto. A PCR consiste basicamente na amplificação de uma região alvo específica do ácido nucleico com intuito de aumentar o número de cópias deste material genético (KASVI, 2015, 2017; LUPERINI; SANTOS, 2021). O qPCR, por outro lado, é uma variação mais recente da técnica de PCR convencional que utiliza um equipamento com sistema de fluorescência, o qual emite uma luz a cada ciclo de amplificação, permitindo a quantificação e, conseqüentemente, a detecção do material genético com maior precisão e velocidade se comparado à PCR convencional. Por sua vez, a RT-qPCR é utilizada quando o material genético alvo é uma molécula de RNA, como no caso do SARS-CoV-2. A transcriptase reversa é uma enzima comumente encontrada em vírus, responsável pela síntese de um DNA complementar a partir de um RNA molde (BUSTIN, 2004; KASVI, 2015, 2017; CORPUZ et al., 2020; PILEVAR et al., 2021; LUPERINI; SANTOS, 2021).

A maioria dos ensaios de qPCR utilizam como molécula alvo o gene das proteínas N, E, ORF1ab, ORF1b e S (KITAJIMA et al., 2020). Ensaios realizados com efluente bruto de Brisbane, Austrália, e cidades da Holanda, dentre estas, Amsterdã, utilizaram N-Sarbeco NIID_2019-nCOV e/ou oligonucleotídeos para as regiões N1, N2 e N3 no qPCR e detectaram, respectivamente, 22% e 58% de amostras positivas para o SARS-CoV-2 (AHMED et al., 2020a, MEDEMA et al.; 2020). Nos estados de Massachusetts e de Montana, EUA, amostras de efluente não tratado também foram avaliadas, mostrando a presença de SARS-CoV-2 em 71% e 100% das amostras avaliadas com concentração na ordem de 2×10^5 e 3×10^4 cópias

de RNA L⁻¹, respectivamente (NEMUDRYI et al.; 2020; WU et al.; 2020b).

As técnicas baseadas na PCR podem coletar dados genotípicos e informações epidemiológicas que podem ser vinculados a programas de vacinação. Em vista do aprimoramento na resposta de detecção, o método de PCR passou ainda a ser associado a outras tecnologias, por exemplo, o ensaio de PCR digital (dPCR) com a tecnologia de placas microfluídicas (LAHRICH et al., 2021; PILEVAR et al., 2021) e a *Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification* (RT-LAMP, ou amplificação isotérmica mediada por alça precedida por transcrição reversa).

O RT-LAMP tem o potencial de se tornar uma opção rápida e econômica para monitorar infecções por COVID-19 via WBE. A técnica, criada em 2012, é utilizada para estudos dos vírus da dengue, zika e *chikungunya*. Similar à RT-qPCR, o RT-LAMP também utiliza a transcriptase reversa para a síntese de DNA complementar. No entanto, na etapa de amplificação, o RT-LAMP utiliza apenas uma faixa de temperatura de 60 a 65 °C. Nessa análise, são utilizados de quatro a seis *primers*, onde dois são internos e base para a enzima polimerase sintetizar a fita de DNA; ao passo que os externos reconhecem a fita molde e realizam a extensão da fita de DNA complementar (cDNA) (ONGERTH; DANIELSON, 2021; DONIA et al., 2022).

Amoah et al. (2021) investigaram ETEs por quatro semanas aplicando protocolos otimizados para a técnica RT-LAMP para detecção de SARS-CoV-2 com limite de 10 cópias (25 µL)⁻¹, obtendo resultado positivo em 35 minutos. O RT-LAMP teve prevalência de 31% e 47% de amostras positivadas para, respectivamente, moldes iniciais de 92,7 e 480 ng µL⁻¹ do RNA extraído, mostrando o potencial da técnica para estudo de efluentes. Vale destacar que os resultados da

RT-LAMP detectaram o vírus sob baixa concentração de cópias do genoma por mililitro (gc mL⁻¹), a 20,7 gc mL⁻¹ de SARS-CoV-2, o que mostra a técnica como promissora (AMOAH et al., 2021).

A dPCR também é uma abordagem promissora para a detecção/quantificação do novo coronavírus. É uma técnica sensível, capaz de detectar concentrações menores (até 10x menor quando comparada à RT-PCR) e capaz de resistir melhor a contaminantes da matriz ambiental. Existem ainda variantes da dPCR como a *droplet digital PCR* (ddPCR), que apresenta um limite de detecção ainda menor (AMOAH et al., 2021; MA et al., 2022). Ma et al. (2022) demonstraram pela primeira vez o uso de RT-dPCR baseado em *chip* (duplex) para WBE, e os resultados apresentados sugerem que o ensaio possibilitou diagnosticar SARS-CoV-2 em mais amostras do que o ensaio RT-qPCR durante períodos de menor incidência de COVID-19.

Embora as técnicas moleculares baseadas em RT-qPCR sejam as mais utilizadas para detecção de SARS-CoV-2, o uso de biossensores nanotecnológicos também deve ser explorado em função da fácil aplicação, detecção rápida e baixo custo. Um biossensor consiste em um biorreceptor e um transdutor físico (eletroquímico, óptico ou piezoelétrico). O biorreceptor, em geral, é uma molécula semelhante a anticorpos, ácidos nucleicos, enzimas, fagos ou células. As interações entre o biorreceptor e o alvo são convertidas em sinais elétricos pelo transdutor. Os circuitos de leitura processam esses sinais e os transmitem para um computador ou similar, disponibilizando rapidamente os resultados. Assim, além de uma detecção rápida, não são necessários grandes volumes de amostra ou reagentes, o que torna a técnica interessante do ponto de vista da WBE (ZAMHURI et al., 2022).

6 MONITORAMENTO DO SARS-COV-2 EM ESGOTO E PREDIÇÃO EPIDEMIOLÓGICA: INVESTIMENTOS EM SAÚDE E SANEAMENTO

A partir dos resultados de ensaios de concentração e detecção/quantificação viral em amostras de esgoto, cujas técnicas tipicamente ou recentemente empregadas foram revisadas nas Seções 4 e 5, é possível proceder à aplicação da WBE. A WBE é uma ferramenta de vigilância epidemiológica que consiste na verificação da presença de material genético de patógenos em amostras de esgoto, o que permite rastrear sua circulação e estimar a população infectada de uma determinada localidade (AGUIAR-OLIVEIRA et al., 2020; KUMBLATHAN et al., 2021; ABREU et al., 2022). O cruzamento dessas informações aos casos da doença reportados na regional de saúde permite desenvolver correlações acerca da prevalência de uma doença e da forma que os microrganismos patogênicos se propagam na comunidade, provendo suporte às políticas públicas para emissão de alertas.

Desde o início da pandemia de COVID-19, estudos têm sido desenvolvidos no sentido de investigar a correlação entre concentração de RNA viral do SARS-CoV-2 no esgoto bruto/tratado e a prevalência da doença (ARORA et al., 2020; GONAZALEZ et al., 2020; PRADO et al., 2021; LAZUKA et al., 2021; SANJUÁN; DOMINGO-CALAP, 2021; MCMAHAN et al., 2021; MONTEIRO et al., 2022; MAIDA et al., 2022; SOSA-HERNÁNDEZ et al., 2022; ABREU et al., 2022; JOSEPH-DURAN et al., 2022). Além de realçarem a eficiência de aplicação do monitoramento epidemiológico associado ao SARS-CoV-2, os pesquisadores recomendam que, para o aumento da precisão das correlações, as seguintes ações devem ser realizadas: a integração de dados normalizados de carga viral e dados de prevalência aguda e cumulativa da doença; estimativas de prevalência de pesquisas sorológicas e modelos epidemiológicos; e delimitação da população correspondente

aos dados coletados (BHATT et al., 2020; HARAMOTO et al., 2020; LA ROSA et al., 2020; MEDEMA et al., 2020; RANDAZZO et al., 2020b).

Além da correlação com o grau de contaminação por SARS-CoV-2 em uma comunidade inteira, outro aspecto relevante sobre a WBE é a possibilidade de identificação de parte dos infectados assintomáticos ou pré-sintomáticos, uma vez que os contaminados podem evacuar partículas virais do novo coronavírus pelas fezes e urina antes mesmo do aparecimento de sintomas de COVID-19 (HATA et al., 2020; KITAJIMA et al., 2020; SCHMITZ et al., 2021). De acordo com Johansson et al. (2021), cerca de 30% dos portadores do novo coronavírus nunca desenvolvem sintomas da COVID-19 e podem apresentar uma transmissibilidade 75% maior se comparada com pessoas sintomáticas. É importante salientar que, com o desenvolvimento de variantes do SARS-CoV-2 – e.g., Alfa, Beta, Gama, Delta, Deltacron, Omicron, XF, XE, Epsilon, dentre outras (BUTANTAN, 2022; CDC, 2022; WHO, 2022) –, o desenvolvimento de sintomas da doença e a transmissibilidade do vírus podem ter sido efetivamente alterados.

É evidente, então, a necessidade de adotar técnicas alternativas e de baixo custo visando identificar a circulação desse patógeno em uma população, o que possibilita reduzir, dessa maneira, os gastos com testes convencionais individuais. A WBE tem se mostrado um método passivo efetivo no rastreamento do SARS-CoV-2, e pode prever ondas de contaminação em locais com capacidade limitada de testes clínicos ou onde infecções assintomáticas prevalecem (BIBBY et al., 2021; LAHRICH et al., 2021). Dessa maneira, faz-se necessário aumentar os investimentos em saneamento básico (UCKER et al., 2012), visto que a cada US\$ 1 investido em saneamento é gerada uma economia de US\$ 6 na área da saúde (WHO, 2018).

O primeiro estudo que relatou a presença de SARS-CoV-2 em esgoto foi desenvolvido na Holanda (MEDEMA et al., 2020). Em seguida, pesquisas com a mesma premissa foram executadas por outros países, como Israel (BAR-OR et al., 2020), Austrália (AHMED et al., 2020a), Turquia (KOCAMEMI et al., 2020), França (WURTZER et al., 2020), Itália (LA ROSA et al., 2020) e EUA (SHERCHAN et al., 2020). Atualmente, cerca de 70 países adotaram a estratégia de WBE para rastrear o novo coronavírus (NAUGHTON et al., 2021; NAUGHTON, 2022). A Tabela 2 exibe a distribuição global de centros de pesquisa, ou seja,

universidades e laboratórios públicos e privados que utilizam WBE para rastrear o SARS-CoV-2.

De acordo com Naughton et al. (2021), alguns países nacionalizaram ou adotaram uma rede de coordenação nacional para o monitoramento de esgoto para SARS-CoV-2, tais como o Brasil, a partir da Rede Monitoramento Covid Esgotos (CHERNICHARO et al., 2020), além de Espanha, Holanda, Turquia, Finlândia, Hungria, Luxemburgo, EUA e Canadá. Enquanto isso, o monitoramento regional ocorre em países como França, Austrália, África do Sul, Reino Unido e Suíça (NAUGHTON et al., 2021).

Tabela 2 - Países que adotaram a WBE para rastrear a propagação de SARS-CoV-2 e as respectivas quantidades de centros de pesquisa (universidades e laboratórios) que analisam e detectam o patógeno via esgoto

| Número de centros de pesquisa por país | Países |
|--|--|
| 101 – 1000 | EUA, Reino Unido, Holanda, Austrália |
| 11 – 100 | Brasil, Canadá, África do Sul, Espanha, França, Hungria, Finlândia, Estônia, Luxemburgo, Turquia |
| 1 – 10 | México, Argentina, Chile, Costa Rica, Colômbia, Equador, Gana, Nigéria, Quênia, Arábia Saudita, Israel, Emirados Árabes Unidos, Portugal, Bélgica, Irlanda, Itália, Grécia, Suíça, Áustria, República Tcheca, Eslováquia, Alemanha, Dinamarca, Suécia, Letônia, Chipre, Rússia, Índia, Paquistão, Bangladesh, China, Nepal, Japão, Nova Zelândia, Malásia, Filipinas |

Fonte: Naughton et al. (2021) e Naughton (2022).

6.1 Estudo de caso: análise econômica da aplicação da WBE a um município brasileiro

Parte-se agora para a análise econômica da utilização da técnica de WBE para estimativa de circulação de SARS-CoV-2 em uma determinada população urbana, em comparação aos custos da testagem convencional individual para COVID-19. Foi feita a avaliação do município de Lavras (21°14'42" S, 45°0'0" O), localizado no interior do estado de Minas Gerais, Brasil, com uma população estimada em 105.756 habitantes (IBGE, 2022). A Tabela 3 apresenta os métodos/técnicas laboratoriais considerados para emprego no estudo de caso proposto, com base na Nota Técnica elaborada pela Rede Monitoramento Covid Esgotos (INCT; ANA, 2020), assim como os custos estimados para aplicação tanto da WBE por amostra de esgoto (CHERNICHARO

et al., 2020) como da testagem massiva da população com exames convencionais de COVID-19.

Destaca-se que, para os cálculos, não serão consideradas despesas como: instalação e manutenção de laboratórios para análise das amostras de esgoto; transporte e distribuição de testes individuais para a população; pagamento da mão de obra de profissionais técnicos para testagem do esgoto e também da população; dentre outras. Apenas os custos para detecção de partículas virais de SARS-CoV-2 nas amostras de esgoto e para compra de testes individuais para COVID-19 foram levados em conta.

O município conta com 16 estações elevatórias de esgoto e 2 ETEs. Assim, tem-se um total de 18 potenciais pontos de coleta, representativos de diferentes regiões da cidade, que permitem uma “testagem massiva” da população pela análise

da água residuária. De acordo com Chernicharo et al. (2020), o custo estimado da análise por amostra (levando em conta os reagentes químicos e duas repetições por amostra) varia entre R\$ 350 e R\$ 450. Assim, o custo total para análise – de uma única vez – de todas as amostras oriundas dos pontos de coleta ficaria em torno de R\$ 6.300 a R\$ 8.100.

Em contrapartida, cada teste individual para COVID-19 do tipo RT-PCR-ICB (menor custo) custa cerca de R\$ 15 (INPI, 2021) variando até R\$ 80,00 (RT-PCR “convencional”) (JORNAL DA USP,

2020). Nesse sentido, ainda que se aplicassem os custos do PCR de menor valor desenvolvido no Brasil, para uma testagem de toda a população do município, o gasto estimado seria de aproximados R\$ 1.586.340, podendo chegar ao custo de até R\$ 8.460.480,00 utilizando a testagem mais onerosa. Desse modo, em comparação com o valor do monitoramento dos pontos de coleta de esgoto do município, pode-se calcular uma redução no valor de mais de R\$ 1,5 milhão até R\$ 8,4 milhões utilizando-se a WBE para análise do SARS-CoV-2.

Tabela 3 - Condições de contorno para a estimativa de custos financeiros para a implementação da WBE em um município brasileiro e os valores para a testagem massiva via exame convencional para COVID-19

| Aplicação da WBE | | | |
|--|--|---|------------------------------|
| Etapa - Método (INCT; ANA, 2020) | Custo por amostra de esgoto (CHERNICHARO et al., 2020) | Número de pontos de coleta de esgoto em Lavras-MG | Custo total |
| Concentração - Filtração em membrana eletronegativa | R\$ 350 - R\$ 450 / amostra | 18 amostras | R\$ 6.300 - R\$ 8.100 |
| Extração de RNA - Método de adsorção-extração direta | | | |
| Deteccção/Quantificação - RT-qPCR | | | |
| Testagem massiva convencional | | | |
| Exame (INPI, 2021) | Custo individual (JORNAL DA USP, 2020; INPI, 2021) | População de Lavras-MG (IBGE, 2022) | Custo total |
| RT-PCR | R\$ 15 - R\$ 80 / hab. | 105.756 hab. | R\$ 1.586.340 -R\$ 8.460.480 |

Diante do exposto, é possível afirmar que a WBE é uma ferramenta promissora para o monitoramento epidemiológico de uma localidade, trazendo benefícios econômicos para o setor público em comparação à testagem individual da população. No entanto, é importante ressaltar que existem incertezas na utilização dessa estratégia que podem comprometer o monitoramento de uma epidemia em uma certa localidade. A presença de turistas ou viajantes, por exemplo, pode alterar os resultados da real situação epidemiológica da população residente (SIMS; KASPRZYK-HORDERN, 2020). Outros desafios incluem a capacidade precária de diagnóstico e, conseqüentemente, a subestimação da população infectada.

Do ponto de vista epidemiológico, a WBE permite a sinalização precoce do aumento do número de casos da doença, permitindo assim que as autoridades sanitárias municipais/regionais balizem de maneira mais assertiva as ações de combate à pandemia de COVID-19, evitando assim a sobrecarga do sistema de saúde. Apesar de sua aplicação não substituir a necessidade de testagem individual, a WBE pode direcionar a testagem a localidades de carga viral no esgoto mais elevada, gerando-se menos gastos para o poder público e, em função da predição epidemiológica, detectar antecipadamente possíveis aumentos de incidência de COVID-19.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo de revisão abordou a presença de SARS-CoV-2 e outros vírus infectocontagiosos em esgoto e as técnicas de inativação/remoção desses patógenos nas ETEs, bem como os métodos de concentração e detecção/quantificação viral nesse tipo de amostra. Aspectos como o potencial de transmissão secundária da COVID-19 via esgoto e os métodos de recuperação viral aplicados a grandes volumes de amostras ambientais devem ser avaliados com profundidade em pesquisas futuras. Todo esse arcabouço relaciona-se à técnica de vigilância epidemiológica conhecida como WBE.

Conforme demonstrado na literatura científica, a WBE constitui uma ferramenta promissora para o rastreamento da situação epidemiológica da COVID-19, por meio da utilização de métodos de concentração, detecção e quantificação do material genético do SARS-CoV-2 em amostras de esgoto. Esses métodos já eram utilizados para o estudo de vírus entéricos em águas residuárias, ao passo que foram adaptados para análise do novo coronavírus no decorrer da pandemia de COVID-19.

Com a constante adoção global da WBE, pesquisas sobre o monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto avançam rapidamente. O estudo de caso proposto no presente artigo demonstrou benefícios financeiros da implementação dessa estratégia em um município brasileiro. Uma economia variável de R\$ 1,5 milhão a R\$ 8,4 milhões seria alcançada em relação à testagem individual convencional de COVID-19. Entretanto, salienta-se que a adoção da WBE não dispensa a necessidade da testagem individual. Por outro lado, a técnica pode direcionar a testagem a localidades do município/região com carga viral no esgoto mais elevada.

Ademais, a análise do material genético de SARS-CoV-2 presente no esgoto permite rastrear parte dos assintomáticos e pré-sintomáticos, os

quais possivelmente não seriam detectados nos testes convencionais. Portanto, a adoção de WBE pode auxiliar na criação e no gerenciamento de medidas preventivas e mitigadoras pelos órgãos de vigilância sanitária para o controle da epidemia de COVID-19 em uma determinada localidade, evitando-se, de antemão, a sobrecarga do sistema de saúde.

Em suma, a estratégia de vigilância epidemiológica baseada em esgoto evidencia a necessidade de investimentos no sistema de saneamento de forma a estabelecer uma rede coletora de esgoto abrangente nas cidades, principalmente em países emergentes como o Brasil, garantindo uma aplicabilidade efetiva da técnica. Além disso, a WBE não se restringe apenas ao acompanhamento da COVID-19, mas também de outras doenças infectocontagiosas causadas por patógenos que podem ser detectados no esgoto. Dessa forma, a ampliação e a melhoria no saneamento básico urbano se traduzem diretamente no diagnóstico da saúde da população.

8 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig TEC APQ 03060/21) e da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

9 FONTE DE FINANCIAMENTO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, projeto TEC APQ 03060/21.

10 CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Conceitualização: Ázara MS, Crippa RA, Silva LMM, Siqueira JC, Lopes BC, Batista AMM e Siniscalchi LAB; **Metodologia:** Ázara MS, Crippa RA, Silva LMM, Siqueira JC e Siniscalchi LAB;

Investigação: Ázara MS, Crippa RA, Silva LMM, Siqueira JC e Siniscalchi LAB; **Redação - Primeira versão:** Ázara MS, Crippa RA, Silva LMM, Siqueira JC, Lopes BC, Batista AMM e Siniscalchi LAB; **Redação - Revisão & Edição:** Ázara MS, Crippa RA, Silva LMM, Siqueira JC e Siniscalchi LAB; **Aquisição de Financiamento:** Siniscalchi LAB; **Supervisão:** Lopes BC, Batista AMM e Siniscalchi LAB.

11 REFERÊNCIAS

ABREU, M. A. de F.; SIQUEIRA, J. C. de; SOUZA, A. dos R.; ÁZARA, M. S.; LOPES, B. C.; MOTA FILHO, C. R.; BATISTA, A. M. M.; ASSEMAN, P. P.; FRANCO, C. S.; MATOS, M. P. de; SILVA FILHO, M. V. de; SINISCALCHI, L. A. B. Estudo do esgoto de um município do sul de Minas Gerais: correlação de variáveis físicas e químicas, casos de COVID-19 e concentração do RNA de SARS-CoV-2. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 27, n. 5, p. 967-974, 2022. <https://doi.org/10.1590/S1413-415220220006>

ACHAK, M.; BAKRI, S. A.; CHHITI, Y.; ALAOUI, F. E. M.; BARKA, N.; BOUMYA, W. SARS-CoV-2 in hospital wastewater during outbreak of COVID-19: A review on detection, survival and disinfection technologies. **Science of the Total Environment**, v. 761, p. 143192, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143192>

AGUIAR-OLIVEIRA, M. DE L.; CAMPOS, A.; MATOS, A. R.; RIGOTTO, C.; SOTERO-MARTINS, A.; TEIXEIRA, P. F. P.; SIQUEIRA, M. M. Wastewater-Based Epidemiology (WBE) and Viral Detection in Polluted Surface Water: A Valuable Tool for COVID-19 Surveillance—A Brief Review. **Water**, v. 17, n. 24, p. 9251, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijerph17249251>

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**, v. 728, n. 138764, 2020a. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>

AHMED, W.; BERTSCH, P. M.; BIVINS, A.; BIBBY, K.; FARKAS, K.; GATHERCOLE, A.; HARAMOTO, E.; GYAWALI, P.; KORAJKIC, A.; MCMINN, B. R.; MUELLER, J. F.; SIMPSON, S. L.; SMITH, W. J. M.; SYMONDS, E. M.; THOMAS, K. V.; VERHAGEN, R.; KITAJIMA, M. Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR-based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 739, p. 139960, 2020b. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139960>

AHMED, W.; BIVINS, A.; SIMPSON, S. L.; SMITH, W. J.; METCALFE, S.; MCMINN, B.; SYMONDS, E. M.; KORAJKIC, A. Comparative analysis of rapid concentration methods for the recovery of SARS-CoV-2 and quantification of human enteric viruses and a sewage-associated marker gene in untreated wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 799, p. 149386, 2021a. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149386>

AHMED, W.; TSCHARKE, B.; BERTSCH, P.M.; BIBBY, K.; BIVINS, A.; CHOI, P.; CLARKE, L.; DWYER, J.; EDSON, J.; NGUYEN, T. M. H.; O'BRIEN, J. W.; SIMPSON, S. L.; SHERMAN, P.; THOMAS, K. V.; VERHAGEN, R.; ZAUGG, J.; MUELLER, J. F. SARS-CoV-2 RNA monitoring in wastewater as a potential early warning system for COVID-19 transmission in the community: A temporal case study. **Science of the Total Environment**, v. 76, p. 144216-144216, 2021b. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144216>

ALEXANDER, M.; ROOTES, C.L.; VAN VUREN, P.J.; STEWART, C.R. Concentration of infectious SARS-CoV-2 by polyethylene glycol precipitation. **Journal of Virological Methods**, v. 286, p. 113977, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2020.113977>

ALI, W.; ZHANG, H.; WANG, Z.; CHANG, C.; JAVED, A.; ALI, K.; DU, W.; NIAZI, N. K.; MAO, K.; YANG, Z. Occurrence of various viruses and recent evidence of SARS-CoV-2 in wastewater systems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 414, p. 125439, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125439>

AMOAH, I. D.; MTHETHWA, N. P.; PILLAY, L.; DEEPNARAIN, N.; PILLAY, K.; AWOLUSI, O. O.; KUMARI, S.; BUX, F. RT-LAMP: A Cheaper, Simpler and Faster Alternative for the Detection of SARS-CoV-2 in Wastewater. **Food and Environmental Virology**, v. 13, p. 447-456, 2021. <https://doi.org/10.1007/s12560-021-09489-7>

ARORA, S.; NAG, A.; SETHI, J.; RAJVANSHI, J.; SAXENA, S.; SHRIVASTAVA, S. K.; GUPTA, A. B. Sewage surveillance for the presence of SARS-CoV-2 genome as a useful wastewater based epidemiology (WBE) tracking tool in India. **Water Science and Technology**, v. 82, n. 12, p. 2823-2836, 2020. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.540>

ARSLAN, M.; XU, B.; GAMAL EL-DIN, M. Transmission of SARS-CoV-2 via fecal-oral and aerosols-borne routes: Environmental dynamics and implications for wastewater management in underprivileged societies. **Science of the Total Environment**, v. 743, p. 140709, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140709>

ASGHAR, H.; DIOP, O. M.; WELDEGEBRIEL, G.; MALIK, F.; SHETTY, S.; EL BASSIONI, L.; AKANDE, A. O.; AL MAAMOUN, E.; ZAIDI, S.; ADENIJI, A. J.; BURNS, C. C.; DESHPANDE, J.; OBERSTE, M. S.; LOWTHER, S. A. Environmental Surveillance for Polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. suppl 1, p. S294-S303, 2014. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu384>

BALBOA, S.; MAURICIO-IGLESIAS, M.; RODRIGUEZ, S.; MARTÍNEZ-LAMAS, L.; VASALLO, F. J.; REGUEIRO, B.; LEMA, J. M. The fate of SARS-COV-2 in WWTPS points out the sludge line as a suitable spot for detection of COVID-19. **Science of the Total Environ-**

- ment, v. 772, p. 145268, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145268>
- BAR-OR, I.; YANIV, K.; SHAGAN, M.; OZER, E.; ERSTER, O.; MENDELSON, E.; MANNASSE, B.; SHIRAZI, R.; KRAMARSKY-WINTER, E.; NIR, O.; ABU-ALI, H.; RONEN, Z.; RINOTT, E.; LEWIS, Y. E.; FRIEDLER, E.; BITKOVER, E.; PAITAN, Y.; BERCHENKO, Y.; KUSHMARO, A. Regressing SARS-CoV-2 sewage measurements onto COVID-19 burden in the population: A proof-of-concept for quantitative environmental surveillance. **medRxiv** (preprint), 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.26.20073569>
- BARRETT, M.; FITZHENRY, K.; O'FLAHERTY, V.; DORE, W.; KEAVENEY, S.; CORMICAN, M.; ROWAN, N.; CLIFFORD, E. Detection, fate and inactivation of pathogenic norovirus employing settlement and UV treatment in wastewater treatment facilities. **Science of the Total Environment**, v. 568, p. 1026–1036, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.067>
- BHATT, A.; ARORA, P.; PRAJAPATI, S. K. Occurrence, fates and potential treatment approaches for removal of viruses from wastewater: A review with emphasis on SARS-CoV-2. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 5, p. 104429, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104429>
- BIBBY, K.; BIVINS, A.; WU, Z.; NORTH, D. Making waves: Plausible lead time for wastewater based epidemiology as an early warning system for COVID-19. **Water Research**, v. 202, n. 117438, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117438>
- BOFILL-MAS, S.; RUSIÑOL, M. Recent trends on methods for the concentration of viruses from water samples. **Current Opinion in Environmental Science and Health**, v. 16, p. 7–13, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.01.006>
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº 498/2020**. Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos, e dá outras providências. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-n-498-de-19-de-agosto-de-2020-273467970>. Acesso em: 11 set. 2022.
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº 503/2021**. Define critérios e procedimentos para o reúso em sistemas de fertirrigação de efluentes provenientes de indústrias de alimentos, bebidas, laticínios, frigoríficos e graxarias. 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-conama-n-503-de-14-de-dezembro-de-2021-367783680>. Acesso em: 11 set. 2022.
- BUSTIN, S. **A-Z of quantitative PCR**. La Jolla: International University Line, 2004, 882 p.
- BUTANTAN. **Variantes recombinantes da Covid-19: entenda suas diferenças**. 2022. Disponível em: <https://butantan.gov.br/covid/butantan-tira-duvida/tira-duvida-noticias/variantes-recombinantes-da-covid-19-entenda-suas-diferencas>. Acesso em: 20 abr. 2021.
- CALGUA, B.; RODRIGUEZ-MANZANO, J.; HUNDESA, A.; SUÑEN, E.; CALVO, M.; BOFILL-MAS, S.; GIRONES, R. New methods for the concentration of viruses from urban sewage using quantitative PCR. **Journal of Virological Methods**, v. 187, n. 2, p. 215–221, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.10.012>
- CASANOVA, L.; RUTALA, W. A.; WEBER, D. J.; SOBSEY, M. D. Survival of surrogate coronaviruses in water. **Water Research**, v. 43, n. 7, p. 1893–1898, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.02.002>
- CASAS, N.; SUNÉN, E. Detection of enteroviruses, hepatitis a virus and rotaviruses in sewage by means of an immunomagnetic capture reverse transcription-PCR assay. **Microbiological Research**, v. 157, n. 3, p. 169–176, 2002. <https://doi.org/10.1078/0944-5013-00152>
- CASHDOLLAR, J. L.; WYMER, L. Methods for primary concentration of viruses from water samples: a review and meta-analysis of recent studies. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 1, p. 1–11, 2013. <https://doi.org/10.1111/JAM.12143>
- CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions**. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>. Acesso em: 29 set. 2022.
- CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Science Brief: SARS-CoV-2 and Surface (Fomite) Transmission for Indoor Community Environments**. 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/surface-transmission.html>. Acesso em: 25 set. 2022.
- CESPEDES, M. DA S.; SOUZA, J. C. R. P. DE. Coronavirus: a clinical update of Covid-19. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 66, n. 2, p. 116–123, 2020. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.66.2.116>
- CHAN, J. F. W.; YUAN, S.; KOK, K. H.; TO, K. K. W.; CHU, H.; YANG, J.; XING, F.; LIU, J.; YIP, C. C. Y.; POON, R. W. S.; TSOI, H. W.; LO, S. K. F.; CHAN, K. H.; POON, V. K. M.; CHAN, W. M.; IP, J. D.; CAI, J. P.; CHENG, V. C. C.; CHEN, H.; HUI, C. K. M.; YUEN, K. Y. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 514–523, 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30154-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9)
- CHATTERJEE, A.; ALI, F.; BANGE, D.; KONDABAGIL, K. Isolation and complete genome sequencing of Mimivirus bombay, a Giant Virus in sewage of Mumbai, India. **Genomics Data**, v. 9, p. 1–3, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.05.013>
- CHERNICHARO, C. A. DE L.; MOTA FILHO, C. R.; CAVALCANTI, D. L.; ARAÚJO, J. C. DE; LOBATO, L. C. S.; SILVA, L. DE A. C.; FUCKNER, M. A.; REIS, M. T. DE P.; AYRIMORAES, S. R.; RIBEIRO, T. B. **Nota Técnica – Contribuição para a elaboração de planos de monitoramento da ocorrência do novo coronavírus no esgoto**. Belo Horizonte, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/assuntos/acontece-na-ana/monitoramento-covid-esgotos/boletins-monitoramento-covid-esgotos/nota-tecnica-no-012020.pdf>. Acesso em: 1 mai. 2021.

- CHU, D.; SINGH, V.; NGOC, S. V.; NGUYEN, T.; BARCELÓ, D. Transmission of SARS-CoV-2 infections and exposure in surfaces, points and wastewaters: A global one health perspective. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 5, p. 100184, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.csee.2022.100184>
- COLLIVIGNARELLI, M. C.; COLLIVIGNARELLI, C.; CARNEVALE MIINO, M.; ABBÀ, A.; PEDRAZZANI, R.; BERTANZA, G. SARS-CoV-2 in sewer systems and connected facilities. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 143, p. 196–203, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.06.049>
- CORPUZ, M. V. A.; BUONERBA, A.; VIGLIOTTA, G.; ZARRA, T.; BALLESTEROS, F.; CAMPIGLIA, P.; BELGIORNO, V.; KORSHIN, G.; NADDEO, V. Viruses in wastewater: occurrence, abundance and detection methods. **Science of the Total Environment**, v. 745, p. 140910, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140910>
- CUEVAS-FERRANDO, E.; PÉREZ-CATALUÑA, A.; ALLENDE, A.; GUIX, S.; RANDAZZO, W.; SÁNCHEZ, G. Recovering coronavirus from large volumes of water. **Science of the Total Environment**, v. 762, p. 143101, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143101>
- DHAMA, K.; PATEL, S. K.; YATOO, M. I.; TIWARI, R.; SHARUN, K.; DHAMA, J.; NATESAN, S.; MALIK, Y. S.; SINGH, K. P.; HARAPAN, H. SARS-CoV-2 existence in sewage and wastewater: A global public health concern? **Journal of Environmental Management**, v. 280, p. 111825, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111825>
- DI PROFIO, F.; MELEGARI, I.; PALOMBIERI, A.; SARCHESI, V.; ARBUATTI, A.; FRUCI, P.; MARSILIO, F.; MARTELLA, V.; DI MARTINO, B. High prevalence of hepatitis E virus in raw sewage in Southern Italy. **Virus Research**, v. 272, p. 197710, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197710>
- DONIA, A.; SHAHID, M. F.; HASSAN, S.; SHAHID, R.; AHMAD, A.; JAVED, A.; NAWAZ, M.; YAQUB, T.; BOKHARI, H. Integration of RT-LAMP and Microfluidic Technology for Detection of SARS-CoV-2 in Wastewater as an Advanced Point-of-Care Platform. **Food and Environmental Virology**, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12560-022-09522-3>
- DU, Z.; PANDEY, A.; BAI, Y.; FITZPATRICK, M. C.; CHINAZZI, M.; PASTORE Y PIONTTI, A.; LACHMANN, M.; VESPIGNANI, A.; COWLING, B. J.; GALVANI, A. P.; MEYERS, L. A. Comparative cost-effectiveness of SARS-CoV-2 testing strategies in the USA: a modelling study. **The Lancet Public Health**, v. 6, n. 3, p. e184–e191, 2021. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00002-5)
- 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**, v. 755, p. 142575, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142575>
- ESPINOSA, M. F.; VERBYLA, M. E.; VASSALLE, L.; LEAL, C.; LEROY-FREITAS, D.; MACHADO, E.; FERNANDES, L.; ROSA-MACHADO, A. T.; CALÁBRIA, J.; CHERNICHARO, C.; MOTA FILHO, C. R. Reduction and liquid-solid partitioning of SARS-CoV-2 and adenovirus throughout the different stages of a pilot-scale wastewater treatment plant. **Water Research**, v. 212, p. 118069, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118069>
- FERREIRA FILHO, S. S. **Tratamento de Água - Concepção, projeto e operação de estações de tratamento**. 1 ed. Barueri: GEN LTC, 2017, 472 p.
- FOLADORI, P.; CUTRUPI, F.; CADONNA, M.; MANARA, S. Coronaviruses and SARS-CoV-2 in sewerage and their removal: Step by step in wastewater treatment plants. **Environmental Research**, v. 207, p. 112204, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112204>
- FORÉS, E.; BOFILL-MAS, S.; ITARTE, M.; MARTÍNEZ-PUCHOL, S.; HUNDESA, A.; CALVO, M.; BORREGO, C. M.; COROMINAS, L. L.; GIRONES, R.; RUSIÑOL, M. Evaluation of two rapid ultrafiltration-based methods for SARS-CoV-2 concentration from wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 768, p. 144786, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144786>
- FORSTER, P.; FORSTER, L.; RENFREW, C.; FORSTER, M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 17, p. 9241–9243, 2020. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004999117>
- GELDERBLOM, H. R. Structure and Classification of Viruses. In: BARON, S. (Ed.) **Medical Microbiology**. 4 ed. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston, EUA., 1996.
- GHOLOPOUR, S.; MOHAMMADI, F.; NIKAEEN, M.; SHAMSIZADEH, Z.; KHAZENI, A.; SAHBAEI, Z.; MOUSAVI, S. M.; GHOBADIAN, M.; MIRHENDI, H. COVID-19 infection risk from exposure to aerosols of wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 273, p. 129701, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129701>
- GONÇALVES, J.; SILVA, P. G. da; REIS, L.; NASCIMENTO, M. S. J.; KORITNIK, T.; PARAGI, M.; MESQUITA, J. R. Surface contamination with SARS-CoV-2: A systematic review. **Science of the Total Environment**, v. 798, p. 149231, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149231>
- GONZALEZ, R.; CURTIS, K.; BIVINS, A.; BIBBY, K.; WEIR, M. H.; YETKA, K.; THOMPSON, H.; KEELING, D.; MITCHELL, J.; GONZALEZ, D. COVID-19 surveillance in southeastern Virginia using wastewater-based epidemiology. **Water Research**, v. 186, p. 116296, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116296>
- GORMLEY, M.; ASPRAY, T. J.; KELLY, D. A. COVID-19: mitigating transmission via wastewater plumbing systems. **The Lancet Global Health**, v. 8, n. 5, p. e643, 2020. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30112-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30112-1)
- GUNDY, P. M.; GERBA, C. P.; PEPPER, I. L. Survival of Coronaviruses in Water and Wastewater. **Food and Environmental Virology**, v. 1, n. 1, p. 10–14, 2009. <https://doi.org/10.1007/s12560-008-9001-6>
- GWENZI, W. Leaving no stone unturned in light of the COVID-19 faecal-oral hypothesis? A water, sanitation and hygiene (WASH) perspective targeting low-income countries. **Science of the Total**

- Environment**, v. 753, p. 141751, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141751>
- HAJI ALI, B.; SHAHIN, M. S.; SANGANI, M. M. M.; FAGHIHNEZHAD, M.; BAGHDADI, M. Wastewater aerosols produced during flushing toilets, WWTPs, and irrigation with reclaimed municipal wastewater as indirect exposure to SARS-CoV-2. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 106201, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106201>
- HAO, X.; CHEN, J.; XU, M.; ZHENG, H.; LI, X.; WANG, M.; LIU, T. Separation and purification of enveloped and non-enveloped viruses from water samples using an aqueous two-phase system. **Process Biochemistry**, v. 119, p.58-67, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.05.014>
- HARAMOTO, E.; MALLA, B.; THAKALI, O.; KITAJIMA, M. First environmental surveillance for the presence of SARS-CoV-2 RNA in wastewater and river water in Japan. **Science of the Total Environment**, v. 737, p. 140405, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140405>
- HATA, A.; HONDA, R.; HONDA, R. Potential Sensitivity of Wastewater Monitoring for SARS-CoV-2: Comparison with Norovirus Cases. **Environmental Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 6451-6452, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02271>
- HELLMÉR, M.; PAXÉUS, N.; MAGNIUS, L.; ENACHE, L.; ARNHOLM, B.; JOHANSSON, A.; BERGSTRÖM, T.; NORDER, H. Detection of pathogenic viruses in sewage provided early warnings of hepatitis A virus and norovirus outbreaks. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 21, p. 6771-6781, 2014. <https://doi.org/10.1128/AEM.01981-14>
- HOLSHUE, M. L.; DEBOLT, C.; LINDQUIST, S.; LOFY, K. H.; WIESMAN, J.; BRUCE, H.; SPITTERS, C.; ERICSON, K.; WILKERSON, S.; TURAL, A.; DIAZ, G.; COHN, A.; FOX, L.; PATEL, A.; GERBER, S. I.; KIM, L.; TONG, S.; LU, X.; LINDSTROM, S.; PALLANSCH, M. A.; WELDON, W. C.; BIGGS, H. M.; UYEKI, T. M.; PILLAI, S. K. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 10, p. 929-936, 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191>
- HU, B.; GUO, H.; ZHOU, P.; SHI, Z. L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 141-154, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estimativa populacional 2020 – Lavras (Minas Gerais)**. 2022. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/lavras/painorama>. Acesso em: 30 set. 2022.
- IBRAHIM, C.; HAMMAMI, S.; MEJRI, S.; MEHRI, I.; POTHIER, P.; HASEN, A. Detection of Aichi virus genotype B in two lines of wastewater treatment processes. **Microbial Pathogenesis**, v. 109, p. 305-312, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.06.001>
- IBRAHIM, Y.; OUDA, M.; KADADOU, D.; BANAT, F.; NADDEO, V.; ALSAFAR, H.; YOUSEF, A.F.; BARCELÓ, D.; HASAN, S. Detection and removal of waterborne enteric viruses from wastewater: A comprehensive review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105613, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105613>
- INCT ETES SUSTENTÁVEIS – INSTITUTO NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS SUSTENTÁVEIS; ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO. **Nota Técnica – Metodologia para concentração e quantificação do novo coronavírus em amostras de água e esgoto por técnicas moleculares**. Belo Horizonte, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/assuntos/acontece-na-ana/monitoramento-covid-esgotos/boletins-monitoramento-covid-esgotos/nota-tecnica-no-022020.pdf>. Acesso em: 29 set. 2022.
- INPI – INSTITUTO NACIONAL DE PROPRIEDADE INDIVIDUAL. **Testes para diagnóstico de COVID-19**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/patentes/tecnologias-para-covid-19/Diagnostico>. Acesso em: 1 mai. 2021.
- JOHANSSON, M. A.; QUANDELACY, T. M.; KADA, S.; PRASAD, P. V.; STEELE, M.; BROOKS, J. T.; SLAYTON, R. B.; BIGGERSTAFF, M.; BUTLER, J. C. SARS-CoV-2 Transmission from People without COVID-19 Symptoms. **JAMA Network Open**, v. 4, n. 1, p. 2035057, 2021. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.35057>
- JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 8 ed. Rio de Janeiro: ABES, 2016, 932 p.
- JORNAL DA USP. Instituto de Ciências Biomédicas lança testes que ampliam capacidade de diagnóstico de Covid-19 – **Jornal da USP**. 2020. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/instituto-de-ciencias-biomedicas-lanca-testes-que-ampliam-capacidade-de-diagnostico-de-covid-19>. Acesso em: 3 ago. 2021.
- JOSEPH-DURAN, B.; SERRA-COMPTE, A.; SÀRRIAS, M.; GONZALEZ, S.; LÓPEZ, D.; PRATS, C.; CATALÀ, M.; ALVAREZ-LACALLE, E.; ALONSO, S.; ARNALDOS, M. Assessing wastewater-based epidemiology for the prediction of SARS-CoV-2 incidence in Catalonia. **Scientific Reports**, v. 12, n. 15073, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18518-9>
- JUEL, M. A. I.; STARK, N.; NICOLOSI, B.; LONTAI, J.; LAMBIRTH, K.; SCHLUETER, J.; GIBAS, C.; MUNIR, M. Performance evaluation of virus concentration methods for implementing SARS-CoV-2 wastewater based epidemiology emphasizing quick data turnaround. **Science of the Total Environment**, v. 801, p. 149656, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149656>
- KAMEL, A. H.; ALI, M. A.; EL-NADY, H. G.; DERAZ, A.; AHO, S.; POTHIER, P.; BELLINOT, G. Presence of enteric hepatitis viruses in the sewage and population of Greater Cairo. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 8, p. 1182-1185, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03461.x>
- KANJI, J. N.; ZELYAS, N.; MACDONALD, C.; PABBARAJU, K.; KHAN, M. N.; PRASAD, A.; HU, J.; DIGGLE, M.; BERENGER, B. M.; TIPPLES, G. False negative rate of COVID-19 PCR testing: a discordant tes-

- ting analysis. **Virology Journal**, v. 18, n. 1, p. 13, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01489-0>
- KASVI. **Qual a diferença entre PCR e qPCR?** - Kasvi. 2015. Disponível em: <https://kasvi.com.br/diferenca-pcr-qpcr>. Acesso em: 28 jul. 2021.
- KASVI. **PCR em Tempo Real (qPCR): Aplicação no diagnóstico de Doenças**. 2017. Disponível em: <https://kasvi.com.br/pcr-em-tempo-real-qpcr-diagnostico-doencas>. Acesso em: 28 jul. 2021.
- KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 9, p. 1071–1087, 1999. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-62.9.1071>
- KITAJIMA, M.; AHMED, W.; BIBBY, K.; CARDUCCI, A.; GERBA, C. P.; HAMILTON, K. A.; HARAMOTO, E.; ROSE, J. B. SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. **Science of the Total Environment**, v. 739, p. 139076, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076>
- KOCAMEMI, B. A.; KURT, H.; HACIOGLU, S.; YARALI, C.; SAATCI, A. M.; PAKDEMIRLI, B. First data-set on SARS-CoV-2 detection for istanbul wastewaters in Turkey. **medRxiv** (preprint), 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.05.03.20089417>
- KOCWA-HALUCH, R. Waterborne enteroviruses as a hazard for human health. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 10, n. 6, p. 485–487, 2001. Disponível em: <http://www.pjoes.com/Waterborne-enteroviruses-as-a-hazard-for-human-health,87413,0,2.html>. Acesso em: 20 abr. 2022.
- KOSAREWICZ, O.; FIRLUS, I.; UNIEJEWSKA, G. Usowanie mikroorganizmów chorobotwórczych w oczyszczalniach ścieków miejskich. **Gaz, Woda i Technika Sanitarna**, v. Nr 8, p. 292–297, 1999.
- KUMAR, M.; ALAMIN, MD.; KURODA, K.; DHANGAR, K.; HATA, A.; YAMAGUCHI, H.; HONDA, R.. Potential discharge, attenuation and exposure risk of SARS-CoV-2 in natural water bodies receiving treated wastewater. **npj Clean Water**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2021a. <https://doi.org/10.1038/s41545-021-00098-2>
- KUMAR, M.; KURODA, K.; PATEL, A. K.; PATEL, N.; BHATTACHARYA, P.; JOSHI, M.; JOSHI, C. Decay of SARS-CoV-2 RNA along the wastewater treatment outfitted with Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) system evaluated through two sample concentration techniques. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 142329, 2021b. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142329>
- KUMBLATHAN, T.; LIU, Y.; UPPAL, G. K.; HRUDEY, S. E.; LI, X. Wastewater-Based Epidemiology for Community Monitoring of SARS-CoV-2: Progress and Challenges. **ACS Environmental Au**, v. 1, n. 1, p. 18-31, 2021. <https://doi.org/10.1021/acsenvironau.1c00015>
- KURANI, N.; POLLITZ, K.; COTLIAR, D.; RAMIREZ, G.; COX, C. **COVID-19 Test Prices and Payment Policy – Peterson-KFF Health System Tracker**. 2021. Disponível em: <https://www.healthsys-temtracker.org/brief/covid-19-test-prices-and-payment-policy>. Acesso em: 30 abr. 2021.
- LA ROSA, G.; IACONELLI, M.; MANCINI, P.; BONANNO FERRARO, G.; VENERI, C.; BONADONNA, L.; LUCENTINI, L.; SUFFREDINI, E. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. **Science of the Total Environment**, v. 736, p. 139652, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139652>
- LAHRICH, S.; LAGHRIB, F.; FARAHI, A.; BAKASSE, M.; SAQRANE, S.; EL MHAMMEDI, M. A. Review on the contamination of wastewater by COVID-19 virus: Impact and treatment. **Science of the Total Environment**, v. 751, p. 142325, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142325>
- LAVERICK, M. A.; WYN-JONES, A. P.; CARTER, M. J. Quantitative RT-PCR for the enumeration of noroviruses (Norwalk-like viruses) in water and sewage. **Letters in Applied Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 127–136, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01534.x>
- LAZUKA, A.; SOYEUX, E.; SAMPSON, M.; LEPEUPLE, A.; DELEUZE, Y.; DUTEIL, S. P.; LACROIX, S. COVID-19 wastewater based epidemiology: long-term monitoring of 10 WWTP in France reveals the importance of the sampling context. **Water Science and Technology**, v. 84, n. 8, p. 1997–2013, 2021. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.418>
- LEVICAN, J.; LEVICAN, A.; AMPUERO, M.; GAGGERO, A. JC polyomavirus circulation in one-year surveillance in wastewater in Santiago, Chile. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 71, p. 151–158, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.03.017>
- LI, J.; LIU, J.; YU, H.; ZHAO, W.; XIA, X.; YOU, S.; ZHANG, J.; TONG, H.; WEI, L. Sources, fates and treatment strategies of typical viruses in urban sewage collection/treatment systems: A review. **Desalination**, v. 534, p. 115798, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2022.115798>
- LIU, D.; THOMPSON, J. R.; CARDUCCI, A.; BI, X. Potential secondary transmission of SARS-CoV-2 via wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 749, p. 142358, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142358>
- LODDER, W.; DE RODA HUSMAN, A. M. SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. **The Lancet Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 6, p. 533–534, 2020. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30087-X](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30087-X)
- LUPERINI, R. S.; SANTOS, R. A. C. dos. PCR, qPCR, RT-qPCR... Sopa de letrinhas científica? - **Ilha do Conhecimento**. 2021. Disponível em: <https://ilhadoconhecimento.com.br/pcr-qpcr-rt-qpcr-sopa-de-letrinhas-cientifica>. Acesso em: 28 jul. 2021.
- MA, D.; STRAATHOF, J.; LIU, Y.; HULL, N. M. Monitoring SARS-CoV-2 RNA in Wastewater with RT-qPCR and Chip-Based RT-dPCR: Sewershed-Level Trends and Relationships to COVID-19. **ACS ES&T Water**, 2022. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.2c00055>

- MACHADO, E. C.; LEAL, C. D.; COELHO, B. L.; CHERNICHARO, C. A. DE L.; DE ARAÚJO, J. C. Detecção e quantificação de bactérias resistentes aos antibióticos ampicilina e cloranfenicol em estações de tratamento de esgoto doméstico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 25, n. 6, p. 847–857, 2020. <https://doi.org/10.1590/s1413-4152202020180001>
- MAIDA, C. M.; AMODIO, E.; MAZZUCCO, W.; LA ROSA, G.; LUCENTINI, L.; SUFFREDINI, E.; PALERMO, M.; ANDOLINA, G.; IAIA, F. R.; MERLO, F.; CHIARELLI, M. G.; SIRAGUSA, A.; VITALE, F.; TRAMUTO, F. Wastewater-based epidemiology for early warning of SARS-CoV-2 circulation: A pilot study conducted in Sicily, Italy. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 242, p. 113948, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2022.113948>
- MCMAHAN, C. S.; SELF, S.; RENNERT, L.; KALBAUGH, C.; KRIEBEL, D.; GRAVES, D.; COLBY, C.; DEEVER, J. A.; POPAT, S. C.; KARANFIL, T.; FREEDMAN, D. L. COVID-19 wastewater epidemiology: a model to estimate infected populations. **The Lancet Planetary Health**, v. 5, n. 12, p. E874–E881, 2021. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(21\)00230-8](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(21)00230-8)
- MCMINN, B. R.; KORAJKIC, A.; KELLEHER, J.; HERRMANN, M. P.; PEMBERTON, A. C.; AHMED, W.; VILLEGAS, E. N.; OSHIMA, K. Development of a large volume concentration method for recovery of coronavirus from wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 774, p. 145727, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145727>
- MEDEMA, G.; HEIJNEN, L.; ELSINGA, G.; ITALIAANDER, R.; BROUWER, A. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in the Netherlands. **Environmental Science and Technology Letters**, v. 7, n. 7, p. 511–516, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00357>
- 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, p. 150264, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150264>
- MORESCO, V.; CHARATZIDOU, A.; OLIVER, D. M.; WEIDMANN, M.; MATAALLANA-SURGET, S.; QUILLIAM, R. S. Binding, recovery, and infectiousness of enveloped and non-enveloped viruses associated with plastic pollution in surface water. **Environmental Pollution**, v. 308, p. 119594, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119594>
- NAUGHTON, C. C. **COVIDPoops19**. 2022. Disponível em: <https://ucmerced.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/c778145ea5bb4daeb58d31afeb389082>. Acesso em: 29 set. 2022.
- NAUGHTON, C. C.; ROMAN, F. A.; GRACE, A.; ALVARADO, F.; TARIQI, A. Q.; DEEMING, M. A.; BIBBY, K.; BIVINS, A.; ROSE, J. B.; MEDEMA, G.; AHMED, W.; KATSIVELIS, P.; ALLAN, V.; SINCLAIR, R.; ZHANG, Y.; KINYUA, M. N. Show us the Data: Global COVID-19 Wastewater Monitoring Efforts, Equity, and Gaps. **medRxiv** (preprint), 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.03.14.21253564>
- NEMUDRYI, A.; NEMUDRAIA, A.; SURYA, K.; WIEGAND, T.; BUYUKYORUK, M.; CICHA, C.; VANDERWOOD, K. K.; WILKINSON, R.; WIEDENHEFT, B. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. **Cell Reports Medicine**, v. 1, n. 6, p. 100098, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100098>
- OLIVEIRA, L. C. de; TORRES-FRANCO, A. F.; LOPES, B. C.; SANTOS, B. S. Á. DA S.; COSTA, E. A.; COSTA, M. S.; REIS, M. T. P.; MELO, M. C.; POLIZZI, R. B.; TEIXEIRA, M. M.; MOTA, C. R. Viability of SARS-CoV-2 in river water and wastewater at different temperatures and solids content. **Water Research**, v. 195, p. 117002, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117002>
- OLIVEIRA, S. M. A. C.; VON SPERLING, M. Avaliação de 166 ETEs em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. Parte 1: análise de desempenho. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 347–357, 2005. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522005000400011>
- ONGERTH, J. E.; DANIELSON, R. E. RT qLAMP-Direct Detection of SARS-CoV-2 in Raw Sewage. **Journal of Biomolecular Techniques**, v. 32, n. 3, p. 206–213, 2021. <https://doi.org/10.7171/jbt.21-32-03-016>
- PECCIA, J.; ZULLI, A.; BRACKNEY, D. E.; GRUBAUGH, N. D.; KAPLAN, E. H.; CASANOVAS-MASSANA, A.; KO, A. I.; MALIK, A. A.; WANG, D.; WANG, M.; WARREN, J. L.; WEINBERGER, D. M.; OMER, S. B. Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics. **Nature Biotechnology**, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0684-z>
- PÉREZ-CATALUÑA, A.; CUEVAS-FERRANDO, E.; RANDAZZO, W.; FALCÓ, I.; ALLENDE, A.; SÁNCHEZ, G. Comparing analytical methods to detect SARS-CoV-2 in wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 758, p. 143870, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143870>
- PHILO, S. E.; KEIM, E. K.; SWANSTROM, R.; ONG, A. Q. W.; BURNOR, E. A.; KOSSIK, A. L.; HARRISON, J. C.; DEMEKE, B. A.; ZHOU, N. A.; BECK, N. K.; SHIRAI, J. H.; MESCHKE, J. S. A comparison of SARS-CoV-2 wastewater concentration methods for environmental surveillance. **Science of the Total Environment**, v. 760, p. 144215, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144215>
- PILEVAR, M.; KIM, K. T.; LEE, W. H. Recent advances in biosensors for detecting viruses in water and wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 410, p. 124656, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124656>
- PRADO, T.; FUMIAN, T. M.; MANNARINO, C. F.; RESENDE, P. C.; MOTTA, F. C.; EPIINGHAUS, A. L. F.; VALE, V. H. C. do; BRAZ, R. M. S.; ANDRADE, J. da S. R. de; MARANHÃO, A. G.; MIAGOSTOVICH, M. P. Wastewater-based epidemiology as a useful tool to track SARS-CoV-2 and support public health policies at municipal level

- in Brazil. **Water Research**, v. 191, p. 116810, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116810>
- PRADO, T.; MIAGOSTOVICH, M. P. Virologia ambiental e saneamento no Brasil: Uma revisão narrativa. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 7, p. 1367–1378, 2014. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00109213>
- PRADO, T.; SILVA, D. M.; GUILAYN, W. C.; ROSE, T. L.; GASPAR, A. M. C.; MIAGOSTOVICH, M. P. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1287–1297, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.012>
- RANDAZZO, W.; CUEVAS-FERRANDO, E.; SANJUÁN, R.; DOMINGO-CALAP, P.; SÁNCHEZ, G. Metropolitan wastewater analysis for COVID-19 epidemiological surveillance. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 230, p. 113621, 2020b. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113621>
- RANDAZZO, W.; TRUCHADO, P.; CUEVAS-FERRANDO, E.; SIMÓN, P.; ALLENDE, A.; SÁNCHEZ, G. SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. **Water Research**, v. 181, p. 11594, 2020a. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115942>
- ROLLEMBERG, S.; BARROS, A. N. DE; LIMA, J. P. M. DE. Avaliação da contaminação, sobrevivência e remoção do coronavírus em sistemas de tratamento de esgoto sanitário. **Revista Tecnologia**, v. 41, n. 1, p. 1–15, 2020. <https://doi.org/10.5020/23180730.2020.10849>
- ROMERO, O. C.; STRAUB, A. P.; KOHN, T.; NGUYEN, T. H. Role of temperature and suwannee river natural organic matter on inactivation kinetics of rotavirus and bacteriophage MS2 by solar irradiation. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 24, p. 10385–10393, 2011. <https://doi.org/10.1021/es202067f>
- RUSIÑOL, M.; MARTÍNEZ-PUCHOL, S.; FORÉS, E.; ITARTE, M.; GIORNES, R.; BOFILL-MAS, S. Concentration methods for the quantification of coronavirus and other potentially pandemic enveloped virus from wastewater. **Current Opinion in Environmental Science and Health**, v. 17, p. 21–28, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.08.002>
- RZEŽUTKA, A.; COOK, N. Survival of human enteric viruses in the environment and food. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 28, n. 4, p. 441–453, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.02.001>
- SANJUÁN, R.; DOMINGO-CALAP, P. Reliability of Wastewater Analysis for Monitoring COVID-19 Incidence Revealed by a Long-Term Follow-Up Study. **Frontiers in Virology**, v. 1, p. 776998, 2021. <https://doi.org/10.3389/fviro.2021.776998>
- SAPULA, S. A.; WHITTALL, J. J.; PANDOPULOS, A. J.; GERBER, C.; VENTER, H. An optimized and robust PEG precipitation method for detection of SARS-CoV-2 in wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 785, p. 147270, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147270>
- SCHAAR, H.; SOMMER, R.; SCHÜRHAHL, R.; YILLIA, P.; KREUZINGER, N. Microorganism inactivation by an ozonation step optimized for micropollutant removal from tertiary effluent. **Water Science and Technology**, v. 68, n. 2, p. 311–318, 2013. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.212>
- 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. **medRxiv** (preprint), 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.04.16.21255638>
- SERRA-COMPTE, A.; GONZÁLEZ, S.; ARNALDOS, M.; BERLENDIS, S.; COURTOIS, S.; LORET, J. F.; SCHLOSSER, O.; YÁÑEZ, A. M.; SORIA-SORIA, E.; FITTIPALDI, M.; SAUCEDO, G.; PINAR-MÉNDEZ, A.; PARAIRA, M.; GALOFRÉ, B.; LEMA, J. M.; BALBOA, S.; MAURICIO-IGLESIAS, A. B.; PINTO, R. M.; BERTRAND, I.; GANTZER, C.; MONTERO, X. L. Elimination of SARS-CoV-2 along wastewater and sludge treatment processes. **Water Research**, v. 202, p. 117435, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117435>
- SHANNON, M. A.; BOHN, P. W.; ELIMELECH, M.; GEORGIADIS, J. G.; MARIAS, B. J.; MAYES, A. M. Science and technology for water purification in the coming decades. **Nature**, v. 452, n. 7185, p. 301–310, 2008. <https://doi.org/10.1038/nature06599>
- SHERCHAN, S. P.; SHAHIN, S.; WARD, L. M.; TANDUKAR, S.; AW, T. G.; SCHMITZ, B.; AHMED, W.; KITAJIMA, M. First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA. **Science of the Total Environment**, v. 743, p. 140621, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140621>
- SIMS, N.; KASPRZYK-HORDERN, B. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. **Environment International**, v. 139, p. 105689, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>
- SOSA-HERNÁNDEZ, J. E.; OYERVIDES-MUÑOZ, M. A.; MELCHOR-MARTÍNEZ, E. M.; DRIVER, E. M.; BOWES, D. A.; KRABERGER, S.; LUCERO-SAUCEDO, S. L.; FONTENELE, R. S.; PARRA-ARROYO, L.; HOLLAND, L. A.; PEÑA-BENAVIDES, S. A.; NEWEL, M. E.; MARTÍNEZ-RUIZ, M.; ADHIKARI, S.; RODAS-ZULUAGA, L. I.; KUMAR, R.; LÓPEZ-PACHECO, I. Y.; CASTILLO-ZACARIAS, C.; IQBAL, H. M. N.; LIM, E. S.; SALAS-LIMÓN, D.; VARSANI, A.; HALDEN, R. U.; PARRA-SALDÍVAR, R. Extensive Wastewater-Based Epidemiology as a Resourceful Tool for SARS-CoV-2 Surveillance in a Low-to-Middle-Income Country through a Successful Collaborative Quest: WBE, Mobility, and Clinical Tests. **Water**, v. 14, n. 12, p. 1842, 2022. <https://doi.org/10.3390/w14121842>
- THAKUR, A. K.; SATHYAMURTHY, R.; VELRAJ, R.; LYNCH, I.; SAIDUR, R.; PANDEY, A. K.; SHARSHIR, S. W.; KABEEL, A. E.; HWANG, J.; GANESHKUMAR, P. Secondary transmission of SARS-CoV-2 through wastewater: Concerns and tactics for treatment to effectively control the pandemic. **Journal of Environmental Ma-**

- nagement, v. 290, p. 112668, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112668>
- THEVENIN, T.; LOBERT, P. E.; HOBER, D. Inactivation of Coxsackievirus B4, Feline Calicivirus and Herpes Simplex Virus Type 1: Unexpected Virucidal Effect of a Disinfectant on a Non-Enveloped Virus Applied onto a Surface. *Intervirology*, v. 56, n. 4, p. 224–230, 2013. <https://doi.org/10.1159/000350556>
- THONGPRACHUM, A.; FUJIMOTO, T.; TAKANASHI, S.; SAITO, H.; OKITSU, S.; SHIMIZU, H.; KHAMRIN, P.; MANEEKARN, N.; HAYAKAWA, S.; USHIJIMA, H. Detection of nineteen enteric viruses in raw sewage in Japan. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 63, p. 17–23, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.05.006>
- TORII, S.; OISHI, W.; ZHU, Y.; THAKALI, O.; MALLA, B.; YU, Z.; ZHAO, B.; ARAKAWA, C.; KITAJIMA, M.; HATA, A.; IHARA, M.; KYUWA, S.; SAN, D.; HARAMOTO, E.; KATAYAMA, H. Comparison of five polyethylene glycol precipitation procedures for the RT-qPCR based recovery of murine hepatitis virus, bacteriophage phi6, and pepper mild mottle virus as a surrogate for SARS-CoV-2 from wastewater. *Science of the Total Environment*, v. 807, p. 150722, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150722>
- TRAN, H. N.; LE, G. T.; NGUYEN, D. T.; JUANG, R. S.; RINKLEBE, J.; BHATNAGAR, A.; LIMA, E. C.; IQBAL, H. M. N.; SARMAH, A. K.; CHAO, H. P. SARS-CoV-2 coronavirus in water and wastewater: A critical review about presence and concern. *Environmental Research*, v. 193, p. 110265, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110265>
- UCKER, F. E.; ROGÉRIO, ; ALMEIDA, A.; DANIEL, P.; KEMERICH, C. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater in a constructed wetland system using vetiver grass. *Revista Ambiente & Água*, v. 7, n. 3, 2012. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>
- VON SPERLING, M. *Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos*. 4 ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014. v. 1, 452 p.
- WAN, Y.; SHANG, J.; GRAHAM, R.; BARIC, R. S.; LI, F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*, v. 94, n. 7, p. 127–147, 2020. <https://doi.org/10.1128/jvi.00127-20>
- WANG, H.; SIKORA, P.; RUTGERSSON, C.; LINDH, M.; BRODIN, T.; BJÖRLENIUS, B.; LARSSON, D. G. J.; NORDER, H. Differential removal of human pathogenic viruses from sewage by conventional and ozone treatments. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 221, n. 3, p. 479–488, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.01.012>
- WANG, J.; SHEN, J.; YE, D.; YAN, Y.; ZHANG, Y.; YANG, W.; LI, X.; WANG, J.; ZHANG, L.; PAN, L. Disinfection technology of hospital wastes and wastewater: Suggestions for disinfection strategy during coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic in China. *Environmental Pollution*, v. 262, p. 114665, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114665>
- WANG, R.; ALAMIN, MD.; TSUJI, S.; HARA-YAMAMURA, H.; HATA, A.; ZHAO, B.; IHARA, M.; HONDA, R. Removal performance of SARS-CoV-2 in wastewater treatment by membrane bioreactor, anaerobic-anoxic-oxic, and conventional activated sludge processes. *Science of the Total Environment*, p. 158310, 2022a. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158310>
- WANG, X. W.; LI, J. S.; JIN, M.; ZHEN, B.; KONG, Q. X.; SONG, N.; XIAO, W. J.; YIN, J.; WEI, W.; WANG, G. J.; SI, B. Y.; GUO, B. Z.; LIU, C.; OU, G. R.; WANG, M. N.; FANG, T. Y.; CHAO, F. H.; LI, J. W. Study on the resistance of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. *Journal of Virological Methods*, v. 126, p. 171–177, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.02.005>
- WANG, Z.; ZHANG, C. M.; LI, C. X.; LI, Y. F.; MOU, X.; YOU, R. Evaluation of adsorption-elution methods with positively and negatively charged membranes for virus concentration in municipal wastewater: New insight into effects of dissolved organic matter. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 10, p. 107875, 2022b. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107875>
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **OMS pede aumento de investimentos para atingir meta de banheiro para todos**. 2018. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/1-10-2018-oms-pede-aumento-investimentos-para-atingir-meta-banheiro-para-todos>. Acesso em: 1 mai. 2021.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Coronavirus disease (COVID-19): How is it transmitted?**. 2020a. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted>. 2020a. Acesso em: 27 abr. 2021.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Water, sanitation, hygiene, and waste management for SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19**. 2020b. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-IPC-WASH-2020.4>. Acesso em: 27 abr. 2021.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Tracking SARS-CoV-2 variants**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>. Acesso em: 29 set. 2022.
- WIGGINTON, K. R.; YE, Y.; ELLENBERG, R. M. Emerging investigators series: The source and fate of pandemic viruses in the urban water cycle. *Environmental Science: Water Research and Technology*, v. 1, n. 6, p. 735–746, 2015. <https://doi.org/10.1039/c5ew00125k>
- WILDER, M. L.; MIDDLETON, F.; LARSEN, D.A.; DU, Q.; FENTY, A.; ZENG, T.; INSAF, T.; KILARU, P.; COLLINS, M.; KMUSH, B.; GREEN, H. C. Co-quantification of crAssphage increases confidence in wastewater-based epidemiology for SARS-CoV-2 in low prevalence areas. *Water Research X*, v. 11, p. 100100, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2021.100100>
- WOLOSHIN, S.; PATEL, N.; KESSELHEIM, A. S. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection — Challenges and Implications. *New England Journal of Medicine*, v. 383, n. 6, p. e38, 2020. <https://doi.org/10.1056/nejmp2015897>

- WU, F.; ZHANG, J.; XIAO, A.; GU, X.; LEE, W. L.; ARMAS, F.; KAUFMAN, K.; HANAGE, W.; MATUS, M.; GHAELI, N.; ENDO, N.; DUVALLET, C.; POYET, M.; MONIZ, K.; WASHBURNE, A. D.; ERICKSON, T. B.; CHAI, P. R.; THOMPSON, J.; ALM, E. J. SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. **mSystems**, 2020b. <https://doi.org/10.1101/2020.04.05.200515>
- WU, F.; ZHAO, S.; YU, B.; CHEN, Y. M.; WANG, W.; SONG, Z. G.; HU, Y.; TAO, Z. W.; TIAN, J. H.; PEI, Y. Y.; YUAN, M. L.; ZHANG, Y. L.; DAI, F. H.; LIU, Y.; WANG, Q. M.; ZHENG, J. J.; XU, L.; HOLMES, E. C.; ZHANG, Y. Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 265–269, 2020a. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- WURTZER, S.; MARECHAL, V.; MOUCHEL, J. M.; MADAY, Y.; TEYSOU, R.; RICHARD, E.; ALMAYRAC, J. L.; MOULIN, L. Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters. **medRxiv** (preprint), 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>
- XIAO, F.; TANG, M.; ZHENG, X.; LIU, Y.; LI, X.; SHAN, H. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. **Gastroenterology**, v. 158, n. 6, p. 1831–1833.e3, 2020. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>
- YANG, Q.; RIVAILLER, P.; ZHU, S.; YAN, D.; XIE, N.; TANG, H.; ZHANG, Y.; XU, W. Detection of multiple viruses potentially infecting humans in sewage water from Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. **Science of the Total Environment**, v. 754, p. 142322, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142322>
- YAO, L.; ZHU, W.; SHI, J.; XU, T.; QU, G.; ZHOU, W.; YU, X. F.; ZHANG, X.; JIANG, G. Detection of coronavirus in environmental surveillance and risk monitoring for pandemic control. **Chemical Society Reviews**, v. 50, p. 3656–3676, 2021. <https://doi.org/10.1039/d0cs00595a>
- YE, Y.; ELLENBERG, R. M.; GRAHAM, K. E.; WIGGINTON, K. R. Survivability, Partitioning, and Recovery of Enveloped Viruses in Untreated Municipal Wastewater. **Environmental Science and Technology**, v. 50, n. 10, p. 5077–5085, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00876>
- ZAMHURI, S. A.; SOON, C. F.; NORDIN, A. N.; AB RAHIM, R.; SULTANA, N.; KHAN, M. A.; LIM, G. P.; TEE, K. S. A review on the contamination of SARS-CoV-2 in water bodies: Transmission route, virus recovery and recent biosensor detection techniques. **Sensing and Bio-Sensing Research**, p. 100482, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2022.100482>
- ZHANG, F.; LI, Z.; YIN, L.; ZHANG, Q.; ASKARINAM, N.; MUNDACA-URIBE, R.; TEHRANI, F.; KARSHALEV, E.; GAO, W.; ZHANG, L.; WANG, J. ACE2 Receptor-Modified Algae-Based Microrobot for Removal of SARS-CoV-2 in Wastewater. **Journal of the American Chemical Society**, v. 143, n. 31, p. 12194–12201, 2021. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c04933>
- ZHANG, J.; WANG, S.; XUE, Y. Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus–infected pneumonia. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 6, p. 680–682, 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25742>
- ZHENG, X.; DENG, Y.; XU, X.; LI, S.; ZHANG, Y.; DING, J.; ON, H. Y.; LAI, J. C. C.; YAU, C. I.; CHIN, A. W. H.; POON, L. L. M.; TUN, H. M.; ZHANG, T. Comparison of virus concentration methods and RNA extraction methods for SARS-CoV-2 wastewater surveillance. **Science of the Total Environment**, v. 824, p. 153687, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153687>