



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS

Andreza Magnabosco Mortari

Título: Estudo da correlação de indicadores básicos de saúde com a ocorrência de Norovírus e Rotavírus em águas superficiais, de consumo humano e/ou área de malacocultura em Santa Catarina, Brasil.

Florianópolis

2022

Andreza Magnabosco Mortari

Título: Estudo da correlação de indicadores básicos de saúde com a ocorrência de Norovírus e Rotavírus em águas superficiais, de consumo humano e/ou área de malacocultura em Santa Catarina, Brasil.

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de mestre em Ciências dos Alimentos.

Orientador: Prof^ª Marília Miotto, Dr^ª.

Coorientador: Prof^ª Gislaine Fongaro, Dr^ª.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Mortari, Andreza Magnabosco

Estudo da correlação de indicadores básicos de saúde com a ocorrência de Norovírus e Rotavírus em águas superficiais, de consumo humano e/ou área de malacocultura em Santa Catarina, Brasil. / Andreza Magnabosco Mortari ; orientadora, Marília Miotto, coorientadora, Gislaine Fongaro, 2022.

55 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Vírus. 3. Saneamento. 4. Patógenos. 5. Aquicultura. I. Miotto, Marília . II. Fongaro, Gislaine. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. IV. Título.

Andreza Magnabosco Mortari

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof^ª Doris Sobral Marques Souza, Dr^ª
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^ª Maria Elisa Magri, Dr^ª
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^ª Silvani Verruck, Dr^ª
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Ciências dos Alimentos

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof^ª Marília Miotto, Dr^ª
Orientador(a)

Florianópolis, 2022.

AGRADECIMENTOS

Agradecer... segundo o dicionário é “mostrar-se grato pelo benefício recebido”. Para mim, o simples agradecer torna-se uma grande dádiva, pois percebo que foram tantos os benefícios recebidos ao longo deste estudo! Deixo aqui registrado uma pequena retribuição em palavras, mas que não chega a representar a imensa gratidão que sinto a todos que me fizeram crescer com este trabalho:

Obrigada à força divina, onipresente, que guiou e guia cada momento da minha vida.

Obrigada aos meus pais, também onipresentes e fontes de toda minha força.

Obrigada às minhas irmãs, cunhado e sobrinhos pela doação nos momentos que precisei de apoio.

Obrigada à minha filha, Marcela, por ficar sem minha presença e entender que a mamãe precisava se concentrar no computador (rsrs).

Obrigada ao meu querido Chico, por sempre acreditar que ia dar certo.

Obrigada à diretora (Marlei) e às chefias (Denise e Neusa) do Lacen, por confiarem no meu trabalho e disponibilizarem os dados para a pesquisa.

Obrigada às amigas do Lacen, em especial a Deise, por me estimular a fazer o mestrado e me orientar no estudo. Também às demais “Aguetes”: Adriana, Cristiane, Elisângela, Nara e Neusa, por entenderem meus momentos de estudo.

Obrigada às minhas orientadoras, Marília e Gislaine, por aceitarem orientar este trabalho e me ajudarem muito além do que entendo que um orientador ajuda.

Obrigada ao professor Airton pelas análises estatísticas e ao biólogo Marcus Rodrigues pela autoria dos mapas.

Obrigada ao professor Juliano por aceitar me orientar no início do mestrado e por revisar meu artigo.

Obrigada ao secretário da PPGCAL, Sérgio, por me atender nas infinitas dúvidas.

Obrigada a todos os cientistas, autores dos artigos que consultei, por fazerem o caminho antes de mim.

RESUMO

Este estudo avaliou os resultados registrados no Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina (LACEN/SC) com relação à pesquisa de Rotavírus (RVA) e Norovírus humano (HNoV) - genogrupos GI e GII - em amostras de água de rio, mar, estuário, lagoa e própria para consumo humano, no período de 2018 a 2021, para correlacioná-los entre si e avaliar sua associação com a matriz aquática, presença de cultivo de moluscos, densidade populacional e tratamento de esgoto. O vírus entérico mais prevalente foi o RVA, seguido pelo HNoV GI e HNoV GII, com forte correlação entre a presença/ausência do RVA e a presença/ausência de pelo menos um HNoV, principalmente nas amostras coletadas em rios. Não foi observada correlação entre a presença de nenhum alvo pesquisado e a presença de cultivo de moluscos. Avaliando-se o binômio tratamento de esgoto x densidade populacional, os coeficientes de correlação entre a densidade populacional e a presença de vírus em uma amostra foram maiores do que os coeficientes entre o percentual de esgoto tratado e a presença de vírus. Fontes de poluição de origem humana prejudicam a qualidade das águas próprias para consumo humano e superficiais e por isso os resultados deste trabalho podem auxiliar no desenvolvimento de programas de monitoramento viral nesses locais.

Palavras-chave: Aquicultura, organismos indicadores entéricos, patógenos, vírus, saneamento.

ABSTRACT

This study evaluated the results recorded at the Central Laboratory of Public Health of Santa Catarina (LACEN/SC) in relation to the investigation of Rotavirus (RVA) and Norovirus humano (HNoVs) - genogroups GI and GII - in river, sea, estuary, lagoon and treated water samples, in the period from 2018 to 2021, to correlate them with each other and evaluate their association with the type of water, presence of shellfish farming, population density and sewage treatment. The most prevalent enteric virus was RVA, followed by HNoV GI and HNoV GII, with a strong correlation between the presence/absence of RVA and the presence/absence of at least one HNoV, mainly in samples collected in rivers. No correlation was observed between the presence of any researched target and the presence of mollusc culture. When evaluating the binomial sewage treatment x population density, the correlation coefficients between population density and the presence of virus in a sample were higher than the coefficients between the percentage of treated sewage and the presence of virus. Sources of pollution of human origin impair the quality of treated and surface waters and therefore the results of this work can help in the development of viral monitoring programs in these places.

Keywords: Aquiculture, enteric indicator organisms, pathogens, virus, sanitation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas de tratamento da água e do esgoto provenientes do uso doméstico.....	18
Figura 2 – Chegadas de voos internacionais por mês e ano em Santa Catarina no período de 2014 a 2018.....	21
Figura 3 – Representação esquemática da metodologia descrita por Katayama <i>et al</i> , 2002.....	23
Figura 4 – Locais de coleta das amostras e detecções em Santa Catarina.....	34
Figura 5 – Representação gráfica dos resultados das detecções virais, de acordo à matriz de água analisada, no período de 2019 a 2021 em: Florianópolis, Balneário Camboriú, Itapema, Bombinhas, Porto Belo e Governador Celso Ramos.....	37
Figura 6 – Mapa de prevalência das amostras positivas em municípios catarinenses quanto à detecção de RVA e HNoV GI e GII, no período de 2019 a 2021.....	38
Figura 7 – Mapa relacionando os locais onde há tratamento de esgoto e os resultados na detecção de RVA e HNoV GI e GII.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Índices de atendimento para cada tipo de sistema nos municípios de Florianópolis, Balneário Camboriú, Itapema, Bombinhas, Porto Belo e Governador Celso Ramos.....	20
Tabela 2 – Número de amostras coletadas por ano em cada município e matriz aquática.....	28
Tabela 3 – Iniciadores e sondas utilizados nas reações de RTqPCR para RVA e HNoVs (GI e GII).....	31
Tabela 4 – Resultados globais para cada município durante os anos de 2018 a 2021.....	34
Tabela 5 – Número e porcentagem de resultados detectáveis para os alvos pesquisados no período de 2018 a 2021 em todos os locais amostrados.....	35
Tabela 6 – Casos de surtos de DTHA envolvendo vírus registrados no MS no período de 2007 a 2021.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANA	Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico
cDNA	DNA Complementar
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DDA	Doenças Diarreicas Agudas
DIVS/SC	Diretoria de Vigilância Sanitária de Santa Catarina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNase	Desoxirribonuclease
DTH	Doença de Transmissão Hídrica
DTHA	Doença de Transmissão Hídrica e Alimentar
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
ESP	Eventos de Saúde Pública
EV	Enterovirus
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
GAL/LACEN/SC	Gerenciamento de Análises Laboratoriais do Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Ministério da Saúde
HNoVs	Norovírus humano
OIE	Organização Mundial da Saúde Animal
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PNCMB	Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves
PNI	Programa Nacional de Imunização
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa
RHs	Regiões Hidrográficas
RNA	Ácido Ribonucleico

RNase	Ribonuclease
RT	Transcriptase Reversa
RT-qPCR	Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 OBJETIVOS	14
1.1.1 Objetivo Geral	14
1.1.2 Objetivos Específicos	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 QUALIDADE DA ÁGUA E SAÚDE PÚBLICA.....	16
2.2 SANEAMENTO.....	18
2.3 CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS	20
2.4 CONTAMINAÇÃO DOS MOLUSCOS BIVALVES.....	22
2.5 VÍRUS ENTÉRICOS	23
2.5.1 Rotavírus	24
2.5.2 Norovírus	25
2.6 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE VÍRUS EM AMOSTRAS DE ÁGUA	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 COLETA E RECEPÇÃO DAS AMOSTRAS	27
3.2 PESQUISA DE RVA E HNOVS (GI E GII)	28
3.2.1 Concentração das partículas virais	28
3.2.2 Extração do RNA viral e preparo de DNA complementar (cDNA)	30
3.2.3 Detecção de RVA e HNoVs (GI e GII) por RT-qPCR	30
3.3 ANÁLISE DE DADOS	31
3.3.1 Levantamento dos dados	31
3.3.2 Análise estatística	32
4. RESULTADOS	32
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Vírus entéricos são as principais causas de gastroenterite não bacteriana, de infecções respiratórias, de conjuntivite e hepatite entéricas em humanos, sendo capazes de causar alta mortalidade em pessoas imunocomprometidas. Eles se multiplicam no intestino de indivíduos infectados e podem ser transmitidos com facilidade por via fecal-oral, por contato direto ou por contato com água, alimentos ou meio ambiente contaminados (CIOFFI *et al.*, 2020). A pesquisa desses microrganismos em águas tratadas e não tratadas constitui uma relevante linha de investigação em desenvolvimento no mundo, visando à garantia da qualidade da água consumida pela população (FARKAS *et al.*, 2020). No Brasil e em muitos outros países, esse controle tem se baseado na pesquisa de microrganismos indicadores de contaminação fecal, tais como coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e enterococos, apesar de estudos apontarem que não há correlação entre a contaminação bacteriana e a presença de vírus entéricos (FUSCO *et al.*, 2013; QIU *et al.*, 2015; GRIFFITH *et al.*, 2016; KORAJKIC *et al.*, 2018). Vírus de origem fecal, como Rotavírus (RVA) e Norovírus humano (HNoVs) podem ser isolados em fontes de água superficial e vários trabalhos já demonstraram que sua presença pode comprometer a qualidade da água para consumo (FONGARO *et al.*, 2015; FUSCO *et al.*, 2019; CIOFFI *et al.*, 2020; SHI *et al.*, 2020).

O RVA é um vírus não envelopado, com triplo capsídeo de formato icosaédrico e genoma constituído de ácido ribonucleico (RNA) de fita dupla (BOUSSETINE *et al.*, 2020). Um estudo publicado por Troeger *et al.* (2018) sugere que em 2016 o RVA foi o principal agente etiológico envolvido em mortes por diarreia entre todas as idades e a quinta maior causa de morte de crianças com menos de 5 anos. Entre os fatores de risco mais envolvidos nessas mortes estão o consumo de água contaminada e o saneamento insuficiente. Os HNoVs também são desprovidos de envelope lipídico, apresentam capsídeo com formato icosaédrico, com genoma constituído por RNA de fita simples e sua replicação ocorre associada aos receptores da membrana celular do hospedeiro (PRADO *et al.*, 2014). São responsáveis por 80 a 90% das gastroenterites envolvendo alimentos em todo mundo (CALGUA *et al.*, 2013), sendo o genogrupo GI o principal agente causador de surtos relacionados ao consumo de moluscos bivalves (CAMPOS *et al.*, 2015; FUSCO *et al.*, 2019).

Segundo Pang (2019), as águas superficiais podem ser contaminadas pelos efluentes das estações de tratamento de água e esgoto e mesmo com a diluição das partículas virais neste ambiente, ainda há risco à saúde pública devido à sua baixa dose infectante, geralmente de uma

a 10 partículas virais (CIOFFI *et al.*, 2020). Apesar de haver uma redução na concentração dos vírus durante os processos de tratamento das águas residuais, muitos vírus entéricos ainda podem permanecer viáveis e potencialmente infectantes. Alguns deles podem resistir aos tratamentos aplicados no controle bacteriano, inclusive à cloração, e isso pode acarretar surtos de doenças entéricas, resultado do consumo de água com valores aceitos de padrões de coliformes, mas com resultado detectável para vírus entéricos (FONGARO *et al.*, 2015; QIU *et al.*, 2015; SALVADOR *et al.*, 2020).

A qualidade de alimentos produzidos por aquicultura, como é o caso dos moluscos bivalves, também pode ser prejudicada pelo despejo de dejetos em águas superficiais ou por seu tratamento inadequado. Esses organismos filtram a água para se alimentar e podem acumular contaminantes provenientes de efluente humano, como bactérias, vírus e parasitas. Seu consumo *in natura* é um fator preocupante, pois pode ser a causa de surtos e acarretar prejuízos à saúde pública (SUPLICY, 2018). Le Guyader *et al* (2012) estudaram a transmissão de vírus por moluscos e sugerem que há um tipo de transmissão seletiva de HNoV genogrupo GI em ostras, que ocorre por meio de ligações específicas a carboidratos ligantes, e isso acarreta aumento no acúmulo desse vírus, persistindo até mesmo depois dos procedimentos de depuração.

O objetivo deste trabalho foi fazer o levantamento dos resultados registrados dentro do sistema de gerenciamento de análises laboratoriais do Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina (GAL/LACEN/SC) com relação à pesquisa de RVA e HNoV (GI e GII) em amostras de águas superficiais e águas próprias para consumo humano, no período entre 2018 e 2021, a fim de correlacioná-los entre si e avaliar sua associação com o tipo de água, presença de locais de cultivo de moluscos, densidade populacional e tratamento de esgoto.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a correlação entre RVA e HNoV (GI e GII) em amostras de águas de mananciais, de consumo humano e marinha em municípios catarinenses, bem como o risco potencial de contaminação das zonas de produção de moluscos bivalves no estado de Santa Catarina, no período entre 2018 e 2021.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar o vírus entérico mais prevalente no total de amostras analisadas, bem como em cada município onde foram coletadas;
- Correlacionar os resultados das detecções de RVA e HNoV genogrupos I e II entre as diversas matrizes de água analisadas;
- Observar se há correlação entre a presença dos vírus nas águas e a presença de cultivo de moluscos bivalves na região de coleta;
- Correlacionar os resultados de contaminação por RVA e HNoV com a densidade populacional e a presença de coleta e tratamento de esgoto nos municípios estudados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 QUALIDADE DA ÁGUA E SAÚDE PÚBLICA

Em 2008 uma parceria entre a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) e a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) instituiu o termo *One Health* (Saúde Única). Esse termo passou a ser utilizado para conceituar a inseparabilidade entre a saúde humana, animal e ambiental e para nortear o desenvolvimento de estratégias que auxiliem a minimizar problemas advindos da interação desses três segmentos (CARNEIRO e PETTAN-BREWER, 2021). Posteriormente, em 2015 os estados membros da Organização das Nações Unidas (ONU) se reuniram para publicar a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, um plano de ação envolvendo as medidas necessárias para promoção do desenvolvimento sustentável global. Entre os objetivos relacionados, o documento preconiza ações para assegurar que até 2030, o acesso à água e ao saneamento aconteça para todos, através da melhoria da qualidade da água, por meio da redução da poluição, eliminação de despejo de esgoto e redução da proporção de águas residuais não tratadas (ONU, 2015).

O impacto antropogênico e a saúde da população relacionam-se diretamente com a qualidade dos ambientes aquáticos (PREVOST *et al.*, 2015; La ROSA *et al.*, 2017), acarretando um dos maiores problemas relacionados à contaminação ambiental: o lançamento indiscriminado de esgoto em praias, rios e lagoas. Em 2020, 45% das águas residuais domésticas geradas mundialmente foram descartadas sem tratamento adequado (WHO, 2020a). Estima-se que ao redor do mundo cerca de 80% das águas residuais são liberadas para o meio ambiente sem tratamento suficiente (UNESCO, 2017) e que pelo menos dois milhões de pessoas consomem água contaminada com resíduos fecais (WHO, 2019).

A água contaminada torna-se veículo potencial para transmissão de muitas infecções entéricas, representando um risco à saúde humana (BOFILL-MAS e RUSINÖL, 2020). Até mesmo águas subterrâneas podem ser negativamente impactadas pela presença desses contaminantes de origem fecal (MURPHY *et al.*, 2017). Dentre os patógenos que podem ser transmitidos pela água estão bactérias (por exemplo: *Escherichia coli* patogênicas, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp.; *Vibrio cholerae*), vírus (por exemplo, Rotavírus, Norovírus, Adenovirus) e protozoários (por exemplo, *Cryptosporidium* spp.) (ZAHEDI *et al.*, 2021).

As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) são causadas pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados. Os surtos de DTHA são caracterizados quando duas ou mais pessoas adoecem apresentando sinais e sintomas semelhantes após a ingestão de água ou alimentos de mesma origem ou local. Esses sintomas geralmente envolvem náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, falta de apetite e febre. As doenças diarreicas agudas (DDA) são um grupo de enfermidades causadas por infecções gastrointestinais, e se caracterizam pela ocorrência de, no mínimo, três episódios de diarreia aguda em 24 horas, com diminuição da consistência do bolo fecal e aumento no número de evacuações. Geralmente são auto limitadas, durando até 14 dias, podendo evoluir para quadros sérios de desidratação e desregulação hidroeletrólítica, o que pode levar o paciente a óbito (BRASIL, 2022a).

Mundialmente, as doenças diarreicas causadas por patógenos de veiculação hídrica são responsáveis por aproximadamente quatro bilhões de surtos anuais em todo mundo, chegando a dois milhões de mortes por ano, a maioria envolvendo crianças menores de cinco anos, sendo que uma proporção significativa dessas mortes se deve às infecções virais entéricas (TROEGER et al, 2018; FARKAS *et al.*, 2020). No Brasil foram registrados 6.348 casos de surtos de DTHA entre 2012 e 2021, acometendo 104.839 pacientes e levando 89 deles à morte, sendo que 25,2% dos registros foram decorrentes do consumo de água contaminada (BRASIL, 2022c).

Em território nacional, a Resolução nº 274/2000 do Conselho Nacional do Meio Ambiente define os critérios de balneabilidade para águas doces, salobras e salinas, preconizando que são satisfatórias quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo, 1.000 coliformes termotolerantes ou 800 *E. coli* por 100 ml. Essa resolução recomenda que, para praias ou balneários sistematicamente impróprios, sejam realizadas pesquisas de organismos patogênicos, abrindo caminho para que as revisões considerem a inclusão da pesquisa de vírus entéricos nos programas de monitoramento daqueles recursos hídricos (BRASIL, 2000).

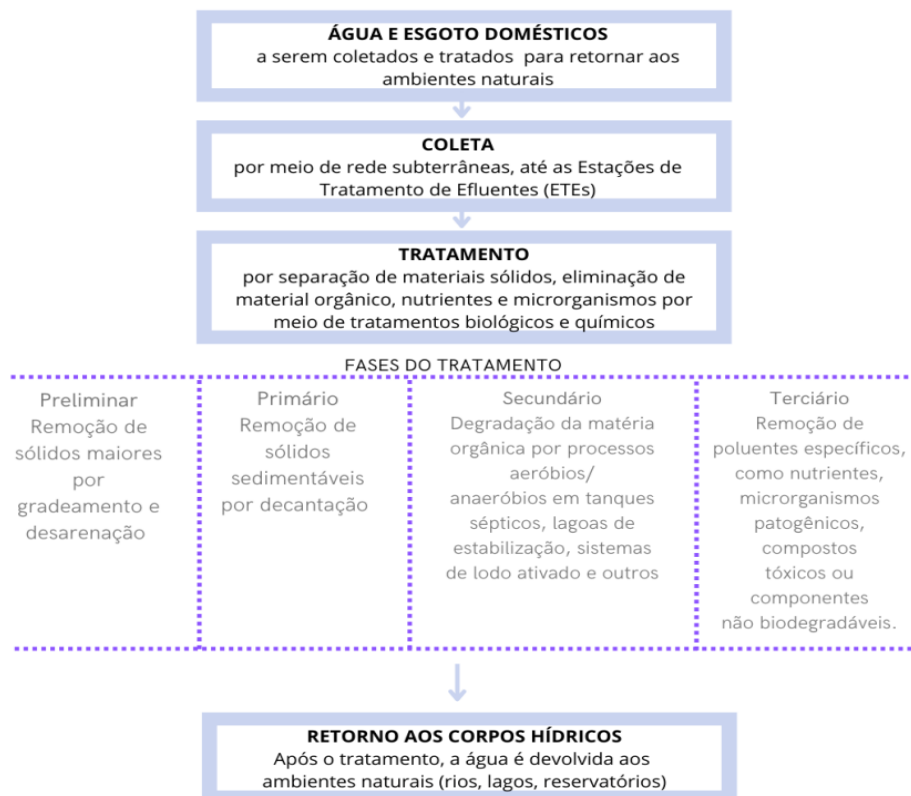
A Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde (MS) (BRASIL, 2011a) recomendava a pesquisa de vírus quando dados epidemiológicos apontassem a água como via de transmissão, e também sugeria a inclusão do monitoramento de vírus entéricos nos pontos de captação de água proveniente de mananciais superficiais de abastecimento, a fim de avaliar os riscos microbiológicos dessas fontes. Entretanto, aquela portaria foi revogada e substituída pela Portaria de Consolidação nº 5 de 2017 (BRASIL, 2017), que no Anexo XX, que tratava do controle e da vigilância da qualidade de água para consumo humano e seu padrão de

potabilidade, reduziu a recomendação somente para monitoramento de vírus entéricos nos pontos de captação de água em mananciais superficiais de abastecimento. Mais recentemente, o Anexo XX foi alterado pela Portaria nº 888/2021 (BRASIL, 2021a) que, infelizmente, passou a vigorar sem nenhuma recomendação relacionada ao monitoramento viral, exigindo somente as análises de coliformes totais e *E. coli*, o que representa um retrocesso legal no que diz respeito à avaliação mais realista do risco microbiológico das águas brasileiras.

2.2 SANEAMENTO

Segundo a OMS, em 2020 apenas 54% da população mundial (4,2 bilhões de pessoas) utilizou um serviço de saneamento seguro, sendo que 1,7 bilhão ainda não era atendida por serviço de saneamento básico, o que ocasionou cerca de 432.000 mortes advindas de DDA (WHO, 2020a). Cerca de 80% da água captada em mananciais naturais, posteriormente tratada e distribuída, se transforma em esgoto após ser utilizada nas residências. A Figura 1 demonstra as etapas de tratamento da água e do esgoto provenientes do uso doméstico até seu retorno ao ambiente.

Figura 1 - Etapas de tratamento da água e do esgoto provenientes do uso doméstico



Fonte: adaptado de Diagnóstico Temático - Serviços de Água e Esgoto (BRASIL, 2021b).

No Brasil, a porcentagem da população que utiliza serviços de saneamento gerenciado com segurança é de 49% (WHO, 2020b), sendo que a diferença entre a presença de rede de abastecimento de água tratada e a presença de rede coletora de esgoto chega a 39%, aproximadamente, ou seja, há mais investimento na distribuição de água que no saneamento básico (IBGE, 2017). Os dados provenientes do Sistema Nacional de Informações sobre saneamento registram que 55% da população brasileira é atendida por rede total de esgoto (BRASIL, 2021b).

Em Santa Catarina 26,1% da população é atendida com rede de esgoto (BRASIL, 2021b). Na capital do estado, a cobertura chega a 87,8% (IBGEa), sendo que onde não há disponibilidade do serviço, o esgotamento é realizado através de soluções individuais, com ou sem tratamento, despejando os efluentes diretamente em redes de drenagem, solo, rios ou mar (FLORIANÓPOLIS, 2021). Porém, um estudo elaborado pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), em 2016 concluiu que a redução da descarga de contaminantes microbiológicos não é efetivamente realizada pelos sistemas de tratamento instalados na região de Florianópolis (GARBOSSA *et al.*, 2016), pois as cargas de indicadores fecais na água do mar eram significativamente mais concentradas na área mais urbanizada da cidade.

Dentre os sistemas de tratamento existentes, estão o sistema centralizado e o sistema descentralizado. O sistema centralizado, ou convencional, é empregado em áreas urbanizadas, com alta densidade populacional, a fim de coletar grandes volumes de águas residuais e proceder seu tratamento e descarte distantes do ponto de origem. Já o descentralizado compreende sistemas locais, onde a coleta, o tratamento e o descarte são realizados próximos ao ponto onde foram gerados, atendendo unidades unifamiliares ou um grupo de unidades próximas ao ponto de coleta (MESQUITA *et al.*, 2021). A tabela 1 apresenta os índices de atendimento para cada tipo de sistema em Florianópolis, Balneário Camboriú, Itapema, Bombinhas, Porto Belo e Governador Celso Ramos, com base nos dados divulgados pelo Atlas Esgoto, (ANA, 2017).

Tabela 1 Índices de atendimento para cada tipo de sistema nos municípios de Florianópolis, Balneário Camboriú, Itapema, Bombinhas, Porto Belo e Governador Celso Ramos

Município	Com coleta e com tratamento* (%)	Solução individual (fossa séptica) ** (%)	Outros (%)
Florianópolis	56,0	35,7	8,3
Balneário Camboriú	91,0	9,0	-
Itapema	59,7	40,3	-
Porto Belo	1,4	75,3	23,3
Bombinhas	16,0	84,0	-
Governador Celso Ramos	-	66,5	33,5

Fonte: ANA, 2017

*sistema centralizado; **sistema descentralizado

2.3 CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS

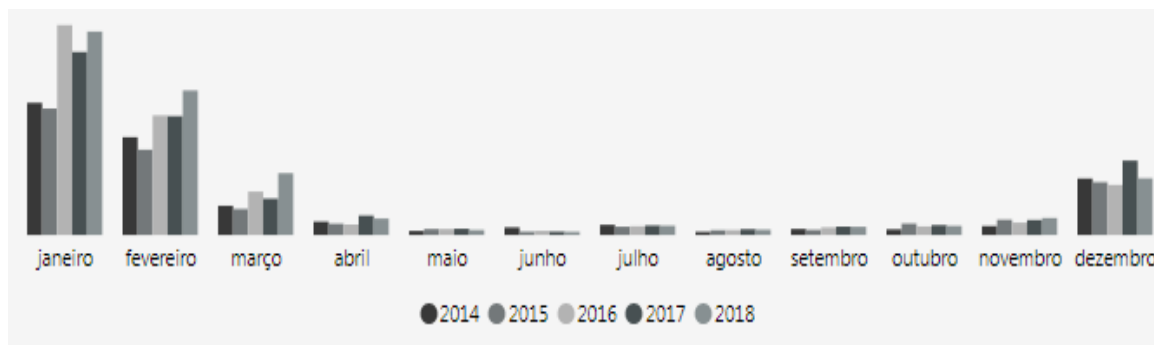
Segundo a OMS, cerca de 50% de toda água residual mundial é destinada parcialmente tratada ou não tratada nos mares, rios e lagoas (WHO, 2020a). Em território nacional, 33% das entidades responsáveis pelo tratamento de esgoto declaram que, ao final do processo, realizam o despejo dos efluentes tratados diretamente nos rios (IBGE, 2017). No caso de municípios costeiros, os efluentes tratados podem ser destinados no mar, por meio de emissários submarinos, desde que sejam previamente tratados, garantindo o atendimento de requisitos específicos, como por exemplo, os padrões de balneabilidade. Além disso, o tratamento prévio deve reduzir, no mínimo, 60% da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) na composição de matérias orgânicas. Quanto menor a DBO, melhor a qualidade da água (BRASIL, 2011b). Mesmo com a existência dessas prerrogativas, a qualidade viral da água não está assegurada já que o controle microbiológico da balneabilidade se dá apenas pela determinação de coliformes totais e *Escherichia coli* (BRASIL, 2021a).

No estado de Santa Catarina, cidades litorâneas como Florianópolis, Balneário Camboriú, Itapema, Bombinhas, Porto Belo e Governador Celso Ramos tiveram um aumento populacional médio de 35%, de 2010 a 2021 (IBGEa), impactando a qualidade das águas superficiais e de consumo, já que esse adensamento populacional sobrecarrega os sistemas de distribuição de água e de tratamento de esgoto locais, exigindo maior capacidade estrutural para atender à crescente demanda e garantir o tratamento adequado do esgoto gerado (GARBOSSA *et al.*, 2016).

Além do crescimento observado na população residente, esses municípios recebem muitos turistas nos meses de verão. Segundo matéria veiculada pelo canal de notícias ND+ (2022a), Santa Catarina apareceu como o nono destino mais procurado no feriado de Corpus

Christi (16/06/2022 a 19/06/2022), uma data afastada da temporada de verão que ainda assim representa o grande interesse dos visitantes em passar alguns dias conhecendo a ilha de Santa Catarina. Os meses de alta temporada são caracterizados por um grande aumento nessa demanda, que ocorre de dezembro a março, conforme mostra a Figura 2.

Figura 2 - Chegadas de voos internacionais por mês e ano em Santa Catarina no período de 2014 a 2018



Fonte: FECOMÉRCIO, 2019

Segundo os indicadores turísticos do Observatório do Turismo de Santa Catarina (FECOMÉRCIO, 2019), em 2014 chegaram ao estado 156.976 voos internacionais, subindo para 226.362 voos em 2018, o que representou 44% de acréscimo. A maioria desses turistas veio a passeio (89,8%), acompanhados da família (67,8%) e ficaram em casas alugadas durante sua estadia (49,5%). Os principais destinos foram as cidades de Florianópolis (53,6%), Bombinhas (17,9%) e Balneário Camboriú (12,3%). Mesmo nos anos posteriores a 2018, período que abrange a época de pandemia e pós-pandemia, as regiões litorâneas de Santa Catarina continuaram a se destacar no setor do turismo, como mostram reportagens vinculadas em redes de notícias estaduais nos anos de 2021 (NEGÓCIOS SC, 2021) e 2022 (ND+, 2022b). Se por um lado esse cenário é positivo para a economia do estado, por outro causa prejuízos ambientais importantes, exigindo a destinação de mais recursos financeiros no setor de infraestrutura, já que com a chegada dos turistas, cresce a demanda nos serviços de abastecimento de água e tratamento de esgoto, juntamente com o aumento na descarga de efluentes nos corpos hídricos.

Ainda que ocorra diluição das partículas virais na água, ainda há risco à saúde pública devido à sua baixa dose infectante (CIOFFI *et al.*, 2020). Apesar de haver uma redução na concentração das partículas virais durante os processos de tratamento das águas residuais, muitos vírus entéricos ainda podem permanecer viáveis e potencialmente infectantes. Alguns

deles podem resistir aos tratamentos aplicados no controle bacteriano, inclusive à cloração, e isso pode acarretar surtos de doenças entéricas, devido ao consumo de água com valores aceitos de padrões de coliformes, mas com presença vírus entéricos (FONGARO *et al.*, 2015; QIU *et al.*, 2015; SALVADOR *et al.* 2020).

2.4 CONTAMINAÇÃO DOS MOLUSCOS BIVALVES

Os moluscos bivalves filtram a água para se alimentar e podem acumular contaminantes provenientes de efluentes domésticos contendo patógenos humanos e zoonóticos, como bactérias, vírus e parasitas, portanto sua qualidade está diretamente ligada à qualidade da água de cultivo (SUPLICY, 2018). O volume de água filtrado por uma ostra é em média de 10 litros por hora (PEREIRA *et al.*, 2006) e, juntamente com esse volume esses animais retêm partículas presentes na água por meio de suas brânquias, que vão capturar, selecionar e transportar elementos que possam servir de alimento (McLOAD *et al.*, 2017). O mecanismo de bioacumulação dos moluscos bivalves impossibilita que as partículas contaminantes já ligadas aos tecidos sejam removidas durante o processo de depuração, até porque níveis de contaminantes relativamente baixos na água, podem ser altamente concentrados no seu interior (HUNT, 2020).

No Brasil, águas onde são cultivados moluscos bivalves são regulamentadas pela Resolução nº 357 do CONAMA, que prevê que a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, seja de 43 por 100 ml, no máximo (BRASIL, 2005a). Em relação aos moluscos, em 2005, o Governo Federal instituiu o Comitê Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Molusco Bivalves (BRASIL, 2005b), com a finalidade de criar o Programa Nacional de Controle Higiênico-sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB), mas somente em 2012 as diretrizes do monitoramento, controle e fiscalização de microrganismos contaminantes em molusco bivalves foram regulamentadas por meio da Instrução Normativa Interministerial nº 07 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2012). Essa norma preconiza que o monitoramento de microrganismos contaminantes em moluscos bivalves deve ser definido por meio da estimativa da densidade média de *E. coli* em 100 gramas da parte comestível dos moluscos bivalves (Número Mais Provável/100g), utilizando-se metodologia oficial tecnicamente amparada.

Até o momento, Santa Catarina é o único estado brasileiro que tem o PNCMB implementado, resultado de parcerias entre os governos federal e estadual, juntamente com

organizações de pequenos e médios produtores locais. Para tanto, a EPAGRI realizou um inquérito sanitário entre os anos de 2012 e 2013 nas baías da Ilha de Santa Catarina, que incluía: avaliação das bacias hidrográficas, cadastramento dos locais com potencial poluidor, quantificação da descarga líquida, monitoramento de parâmetros físico-químicos, caracterização da contaminação microbiológica da água, cálculo das contribuições das bacias monitoradas e estimativa da situação das bacias adjacentes. O resultado obtido foi a constatação que o número de habitantes nas regiões pesquisadas interfere diretamente na carga microbiológica das águas das baías de Florianópolis, o que pode interferir de modo direto na malacocultura catarinense. A maior parte das áreas de cultivo instaladas atualmente no estado de Santa Catarina é impactada pela poluição de origem fecal e muitas fazendas marinhas têm que submeter sua produção a tratamentos pós-colheita por consequência dessa contaminação (SANTA CATARINA, 2017).

2.5 VÍRUS ENTÉRICOS

O vírus é uma partícula constituída de ácidos nucleicos (ácido ribonucleico - RNA ou ácido desoxirribonucleico - DNA), envolta por uma capa de proteína, capaz de se replicar dentro de uma célula hospedeira e de infectar as células adjacentes, causando doenças (ALBERTS *et al.*, 2010). O trato gastrointestinal humano é um ambiente ideal para propagação viral, pois é coberto por células epiteliais em constante replicação, com variedade de nutrientes e temperatura ideal. Os vírus entéricos são uma ampla classe de vírus, capazes de invadir e se replicar no trato gastrointestinal. Alguns vírus entéricos provocam inflamação na mucosa do intestino delgado, causando gastroenterite aguda no indivíduo acometido (BISHOP e KIRKWOOD, 2008). São eliminados pelas fezes e sua transmissão pode ocorrer por via fecal-oral, de pessoa para pessoa ou pelo consumo de água ou alimentos contaminados, acarretando surtos de DTHA. Além das gastroenterites, também estão associados às infecções respiratórias, conjuntivites e hepatites em humanos, sendo capazes de causar alta mortalidade em pessoas imunocomprometidas, crianças e idosos (CIOFFI *et al.*, 2020).

A infectividade dos vírus entéricos depende de sua capacidade em entrar na célula hospedeira e utilizar seus constituintes para produzir partículas virais infecciosas (virions), compostas principalmente pelo capsídeo proteico e pelo genoma. O capsídeo está envolvido na interação da célula viral com a célula hospedeira e também na proteção do genoma frente à degradação das nucleases e às variações ambientais, como umidade, pH, temperatura, radiação

UV (RODRÍGUEZ *et al.*, 2009). Assim, estabiliza a partícula viral em ambientes onde ocorre descarga de águas residuais domésticas, dando-lhe capacidade de permanecer viável (potencialmente infectante) durante vários meses, resistindo às condições ambientais adversas que seriam letais para outros microrganismos, embora não se multipliquem por serem parasitas intracelulares obrigatórios (RIGOTTO *et al.*, 2010). Essa resistência também se deve ao fato de as partículas virais infecciosas conseguirem se aderir com eficiência aos sólidos suspensos na água, favorecendo sua permanência mesmo após tratamentos químicos (BOUSSETINE *et al.*, 2020).

Vírus entéricos, como Rotavírus (RVA) e Norovírus humano (HNoVs), podem ser isolados em fontes de água superficial e vários trabalhos já demonstraram que sua presença nesses ambientes pode comprometer também a qualidade da água para consumo e dos moluscos bivalves aí produzidos (LE GUYADER *et al.*, 2012; FONGARO *et al.*, 2015; FUSCO *et al.*, 2019; CIOFFI *et al.*, 2020; SHI *et al.*, 2020).

2.5.1 Rotavírus

O Rotavírus (RVA) é um vírus não envelopado, pertencente à família *Reoviridae*, com capsídeo icosaédrico medindo entre 70 e 100nm de diâmetro, dividido em oito grupos, sendo que somente os grupos A, B e C infectam humanos e desses, o grupo A é o mais comumente envolvido nas gastroenterites que acometem lactentes e crianças pequenas. Seu genoma é composto por 11 segmentos de RNA de fita dupla, alguns codificando proteínas estruturais (VP1-4, VP6, VP7) e outros, proteínas não estruturais (NSP) (BOUSSETINE *et al.*, 2020). Sua classificação baseia-se na diferença de seus genótipos: genótipos G (glicoproteínas) ou P (sensíveis à protease), sendo 27 G e 35 P reconhecidos (PRADO *et al.*, 2014).

Dentre os patógenos entéricos, o RVA é o que causa as gastroenterites mais graves. Um estudo publicado por Troeger *et al* (2018) sugere que em 2016 ele foi o principal agente etiológico envolvido em mortes por diarreia entre todas as idades e a quinta maior causa de morte de crianças com menos de 5 anos, sendo que entre os fatores de risco mais envolvidos nessas mortes estão o consumo de água contaminada e o saneamento insuficiente. A abrangência na detecção de RVA mundial aumenta proporcionalmente com a gravidade dos sintomas diarreicos, variando de 8 a 10% nos casos mais leves a 35 – 40% nos casos que requerem internação hospitalar. Mais de 90% das mortes anuais ocorrem em países em desenvolvimento, reflexo da falta de acesso ao saneamento e aos tratamentos adequados

(BÁNYAI *et al.*, 2018). No Brasil a vacina para prevenir as rotaviroses foi introduzida no calendário nacional de vacinação pela Portaria 1.602/2006, preconizando sua administração aos dois e aos quatro meses de vida (BRASIL, 2006). A nível mundial, até 2018, 95 países haviam implementado a vacinação, oito deles demonstrando declínio de 49 a 89% nas internações hospitalares associadas a RVA no período de dois anos após a imunização (BÁNYAI *et al.*, 2018).

2.5.2 Norovírus

Os HNoVs são vírus não envelopados, pertencente à família *Caliciviridae*, com capsídeo icosaédrico medindo entre 27 e 40nm de diâmetro e divididos em 10 genogrupos (GI, GII, GIV, GVIII e GIX são os mais patogênicos para humanos), subdivididos em 49 genótipos (CHHABRA *et al.*, 2019).

Seu genoma é formado por RNA de fita simples de senso positivo e sua replicação ocorre associada aos receptores da membrana celular do hospedeiro. O genogrupo GII é o mais prevalente em surtos de gastroenterites a nível mundial, sendo responsável por mais de 90% dos casos clínicos de noroviroses relatados (PRADO *et al.*, 2014). Já o genogrupo GI é o principal agente causador de surtos relacionados ao consumo de moluscos bivalves (FUSCO *et al.*, 2019; CAMPOS *et al.*, 2015). Le Guyader *et al* (2012) afirmaram que a veiculação dos HNoVs por esses animais é influenciada pelos carboidratos ligantes presentes nos tecidos digestivos desses animais. Isso acarreta uma maior concentração dos HNoVs nesses tecidos e também dificulta a remoção viral durante o processo de depuração dos moluscos. Essa ligação é mais frequentemente reportada em espécies de ostras com genogrupo I dos HNoVs.

O período de incubação para os genogrupos GI e GII é de aproximadamente um dia, sendo que 95% dos pacientes apresentam sintomas a partir do segundo dia de acometimento. A ocorrência de vômitos é comum, principalmente em pacientes com mais de um ano. Para crianças menores, a diarreia é o sintoma mais regular. Entre 35 a 45% dos pacientes apresentam febre. A cura tende a ser espontânea, embora em pacientes imunocomprometidos manifestações mais graves possam ser observadas (BOUSSETINE *et al.*, 2020). Os ensaios clínicos com o objetivo de produzir uma vacina contra as noroviroses ainda estão em andamento, pois a variedade de cepas geneticamente diversas é grande. Assim, a prevenção é a melhor maneira de evitar a doença, mediante lavagem frequente das mãos, limitação de contato com pessoas

acometidas, saneamento básico adequado, consumo de água e alimentos seguros (BÁNYAI *et al.*, 2018).

2.6 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE VÍRUS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

A pesquisa de vírus em ambientes aquáticos no Brasil iniciou na década de 1970, sendo posteriormente descritos surtos por DTHA por consumo de água tratada contaminada por esses microrganismos. Mais recentemente, com o desenvolvimento das técnicas moleculares, especialmente da reação em cadeia da polimerase (PCR), o escopo das análises pôde ser ampliado, diversificando os números de vírus a serem pesquisados, com a inclusão daqueles não adaptados à replicação em cultivos celulares, como é o caso dos HNoVs (PRADO *et al.*, 2014). Esse avanço possibilitou a medição direta desses patógenos em águas superficiais, subterrâneas e de consumo, fazendo com que somente a pesquisa de contaminação bacteriana atualmente recomendada parecesse insuficiente.

Apesar disso, a pesquisa de vírus em águas ambientais ainda é um grande desafio devido à complexidade das amostras e às etapas que antecedem a detecção por PCR, mais especificamente a etapa de concentração. Geralmente as partículas virais encontram-se diluídas no ambiente, representando baixas concentrações na amostra e por isso seu volume inicial deve ser concentrado em volumes menores. Entretanto, esse processo também concentra as substâncias biológicas e químicas presentes, o que possibilita resultados falso-negativos na etapa de detecção por PCR, já que podem interferir ou inibir as enzimas utilizadas nessa metodologia (PRADO *et al.*, 2014).

A eficácia de um método pode variar de acordo ao vírus pesquisado, sendo que um único método não é capaz de concentrar com a mesma eficiência todos os vírus presentes em uma amostra de água. Vários métodos podem ser empregados e sua adequação deve levar em conta o tipo de água a ser analisada. Entre eles está a adsorção e eluição das partículas virais, uma metodologia amplamente utilizada em que são utilizadas membranas carregadas eletronegativamente, com adição de sal ($MgCl_2$), a fim de facilitar a ligação do vírus à membrana (HARAMOTO *et al.*, 2018). Katayama *et al.* (2002) demonstraram que a recuperação dos vírus é melhorada se a membrana for lavada adicionalmente com uma solução de ácido sulfúrico 0,5mM (H_2SO_4 0,5mM) antes da eluição com hidróxido de sódio 3mM (NaOH 3mM). A última etapa desse método é a reconcentração do volume eluído, utilizando um dispositivo de ultrafiltração.

Ainda que a pesquisa viral em águas seja altamente recomendada na vigilância epidemiológica de infecções causadas por vírus entéricos, ainda não há um único método padronizado conveniente para qualquer tipo de água, pois para isso deveria atender a requisitos como simplicidade, rapidez na execução, reprodutibilidade, baixo custo e recuperação de vários tipos de vírus (HARAMOTO *et al.*, 2018).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA E RECEPÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram coletadas 170 amostras de água de rio, mar, estuário, lagoa e para consumo (coletada de poços e de sistemas de abastecimento coletivos e individuais), provenientes de 16 municípios catarinenses (Florianópolis, Itapema, Balneário Camboriú, Porto Belo, Bombinhas, Governador Celso Ramos, Itajaí, São João do Oeste, Canelinha, Irineópolis, Orleans, Água Doce, Guaraciaba, Princesa, Santa Rosa do Sul e Urussanga) para a pesquisa de RVA e HNoVs (genogrupos GI e GII). As coletas aconteceram nos anos de 2018 (janeiro, março, agosto, outubro e dezembro), 2019 (janeiro, fevereiro, março, novembro e dezembro), 2020 (janeiro, fevereiro e dezembro) e 2021 (janeiro, fevereiro e março). Foram coletados 2 litros por amostra, que foram transportadas refrigeradas até o laboratório, onde seriam analisadas dentro de um prazo de 48h após a coleta.

As amostras de água superficiais (rio, mar, estuário, lagoa) fizeram parte do “Programa Veraneio”, um monitoramento instituído pela parceria entre a Diretoria de Vigilância Sanitária de Santa Catarina (DIVS/SC) e o LACEN/SC. Já as amostras de água própria para consumo humano provenientes de sistemas de abastecimento (coletivo ou individual) foram analisadas para investigação de suspeita de surto de doença de transmissão hídrica (DTH). A Tabela 2 apresenta o número de amostras coletadas em cada município considerando também a matriz aquática e o ano de análise.

Tabela 2 Número de amostras coletadas por ano em cada município e matriz aquática

Matriz aquática coletada	Município de origem	Número de amostras			
		2018	2019	2020	2021
Água própria para consumo humano n = 26	Água Doce	1	-	-	-
	Canelinha	-	3	-	-
	Florianópolis	4	3	-	-
	Guaraciaba	1	-	-	-
	Irineópolis	1	-	-	1
	Itajai	4	-	-	-
	Orleans	-	-	2	-
	Princesa	1	-	-	-
	Santa Rosa do Sul	1	-	-	-
	São João do Oeste	3	-	-	-
Urussanga	-	-	-	1	
Água do mar n = 50	Balneário Camboriú	-	-	1	3
	Bombinhas	-	-	3	9
	Florianópolis	-	13	5	-
	Governador Celso Ramos	-	-	1	3
	Itapema	-	4	2	6
Água de rio n = 80	Balneário Camboriú	-	2	2	6
	Florianópolis	-	32	11	-
	Governador Celso Ramos	-	-	2	6
	Itapema	-	2	1	3
	Porto Belo	-	1	3	9
Água de estuário n = 9	Florianópolis	-	7	2	-
Água de lagoa n = 5	Florianópolis	-	3	2	-

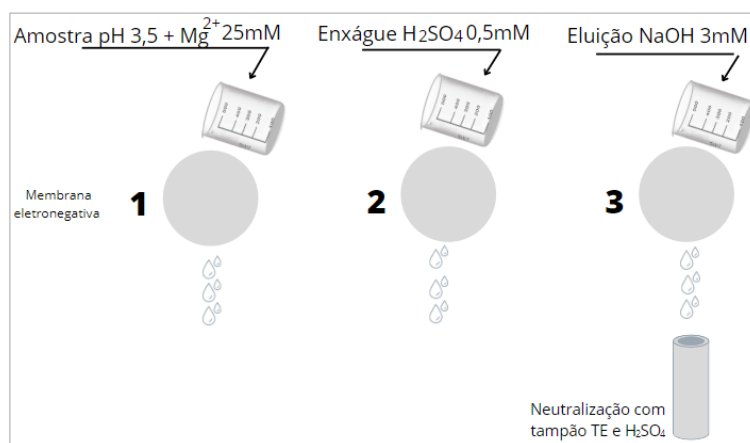
3.2 PESQUISA DE RVA E HNOVS (GI E GII)

3.2.1 Concentração das partículas virais

A metodologia utilizada para concentração das partículas virais foi a descrita por Katayama *et al* (2002), baseada em um método de adsorção-eluição viral, seguido por centrifugação. Vale ressaltar que, independentemente da matriz aquática, o método usado para concentrar

e eluir as partículas virais foi o mesmo, em função da disponibilidade de realização de tal metodologia no LACEN. O controle interno viral foi o bacteriófago PP7, utilizado para garantir que existia recuperação de partículas virais. Para facilitar a aderência das partículas virais à membrana de filtração, 2L de amostra foram tratados com $MgCl_2$ (Exodo Científica, Brasil) e, posteriormente, acidificados a pH 3,5 com HCl (Reagen, Colombo, Paraná). Então a amostra foi filtrada por membrana HA[®] carregada negativamente (poros de 0.45 μ m, com 90mm de diâmetro; Millipore, Bedford, Massachusetts), acoplada ao sistema de filtração da Millipore[®] (Millipore, Bedford, Massachusetts). Então, a membrana foi lavada com solução de H_2SO_4 (Darmstadt, Alemanha), a fim de remover compostos que possam interferir na detecção por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), como os cátions de Mg e possíveis materiais orgânicos (IKNER,2012). Para eluir as partículas virais, a membrana foi colocada em uma placa de petri com diâmetro de 160mm contendo NaOH (Neon Comercial, Suzano, São Paulo) e agitada em agitador orbital por 15 min. (Kasvi, São José dos Pinhais, Paraná). O volume foi aspirado, colocado no concentrador Centriprep[®] YM-50 (Millipore, Bedford, Massachusetts), neutralizado com H_2SO_4 e tampão Tris-EDTA (Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri) e centrifugado a 1.500 rpm por 10 min a 4°C (Sigma, Ostrode, Germany). A figura 3 apresenta uma representação esquemática da metodologia descrita por Katayama *et al*, 2002.

Figura 3 - Representação esquemática da metodologia descrita por Katayama *et al*, 2002.



Fonte: adaptado de www.niph.go.jp/soshiki/suido/pdf/h21JPUS/abstract/r10-1.pdf

3.2.2 Extração do RNA viral e preparo de DNA complementar (cDNA)

A extração e purificação do RNA viral foram feitas a partir do concentrado final das amostras, obtido pelo método de Katayama *et al* (2002), utilizando o kit de extração QIAamp Viral RNA Mini - QIAGEN[®] (Qiagen, Hilden, Germany), conforme instruções do fabricante. Inicialmente esse kit promove a lise das partículas virais em condições capazes de desnaturar e inativar as RNA nucleases (RNAses), além de ligar o RNA a uma matriz que é lavada algumas vezes para retirada de proteínas, RNAses e contaminantes. Para possibilitar a detecção por RT-qPCR (transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase quantitativa), o material extraído foi adicionado a um mix contendo iniciadores (*primers*) randômicos e enzima transcriptase reversa (RT), a fim de sintetizar o cDNA. Essa mistura foi colocada no termociclador (Eppendorf, Hamburg, Germany) e submetida a temperaturas de 25°C por 5 min, 50°C por 1 h, 70°C por 20 min e 10°C por 45 ciclos. O material produzido foi armazenado em ultra freezer (-70°C).

3.2.3 Detecção de RVA e HNoVs (GI e GII) por RT-qPCR

As condições da reação foram definidas de acordo com a bula do reagente utilizado (*GoTaq Master Mix*[®] da Promega, Madison, Wisconsin). Primeiramente, sete microlitros de água ultrapura livre de DNase e RNase, 10µL de Master Mix, um µL de cada iniciador e um µL de sonda foram misturados e distribuídos nos poços (20µL por poço) de uma microplaca óptica para PCR (Axygen[®], Union City, Califórnia). Então 5µL do cDNA foram adicionados aos poços. A microplaca foi selada com adesivo óptico (MicroAmp[®], Applied Biosystems, Foster City, Califórnia), centrifugada e colocada no equipamento de RT-qPCR ABI7500 (Applied Biosystems[®], Foster City, Califórnia). Não foi utilizada curva padrão e as amostras foram analisadas sem diluição.

A Tabela 3 apresenta os iniciadores e sondas utilizados nas reações de RT-qPCR para detecção de RVA e de HNoVs (GI e GII).

Tabela 3 Iniciadores e sondas utilizados nas reações de RT-qPCR para RVA e HNoVs (GI e GII)

	Iniciadores e sondas	Sequência 5' – 3'	Referências
RVA	RVA For	AAC ATC TWC ACR TRA CCC TCT ATG AG	
	RVA Ver	GGT CAC ATA ACG CCC CTA TAG C	Zeng <i>et al.</i> 2008
	RVASonda	VIC AGT TAA AAG CTA ACA CTG TCA AA - MGB	
HNoV GI	Cog 1 For	CGY TGG ATG CGN TTY CAT GA	
	Cog 1 Rev	CTT AGA CGC CAT CAT CAT TYA C	Kageyama <i>et al.</i> 2003
	Sonda ring 1 cog 1	FAM AGA TYG CGA TCY CCT GTC CA - TAMRA	
HNoV GII	Cog 2 For	CAR GAR BCN ATG TTY AGR TGG ATG AG	
	Cog 2 Rev	TCG ACG CCA TCT TCA TTC ACA	Kageyama <i>et al.</i> 2003
	Sonda ring 2 cog 2	VIC TGG GAG GGC GAT CGC AAT CT - MGBNFQ	

Legenda: F= *Foward* / R= *Reverse* / S= Sonda

As condições de reação para a pesquisa de RVA consistiram em um ciclo de ativação a 95°C por dois minutos, seguido de 45 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 minutos, anelamento e extensão a 60°C por um minuto. Para pesquisa de HNoVs, foram utilizadas as mesmas condições, com exceção da etapa de anelamento, que ocorreu a 56°C por 30 segundos. Cada reação foi realizada em duplicata, inclusive as reações dos padrões: controle interno (bacteriófago PP7) e controles positivos (plasmídeos de RVA e HNoVs GI e GII). Os controles das etapas de extração e cDNA foram unicamente analisados. Como controle negativo foi utilizada água ultrapura livre de RNase.

Após a realização das pesquisas de RVA e HNoVs (GI e GII) os resultados foram registrados no GAL/LACEN/SC, um sistema informatizado desenvolvido para laboratórios de Saúde Pública, padronizado nacionalmente pelo MS, onde exames e ensaios de amostras de origem humana, animal e ambiental são gerenciados desde a sua solicitação até emissão do laudo final.

3.3 ANÁLISE DE DADOS

3.3.1 Levantamento dos dados

A fim de verificar a correlação com os vírus isolados nas amostras de água do presente estudo, foi realizado o levantamento das seguintes informações: presença de sistema de tratamento de esgoto nos municípios onde aconteceram as coletas, ocorrência de atividade de malacocultura próximo aos pontos de coleta e densidade populacional dos municípios. A consulta à base de dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGEa) fundamentou o levantamento da densidade populacional de cada município. As informações sobre presença/ausência de tratamento de esgoto nos locais de coleta foram levantadas na base de dados do IBGE (IBGEa) e também no Atlas Esgoto, publicado pela Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico - ANA (ANA, 2017). O Plano Estratégico para Desenvolvimento Sustentável da Maricultura Catarinense (2018-2028) (SUPLICY, 2018) embasou os dados sobre as regiões com presença de fazendas marinhas e produção de moluscos bivalves.

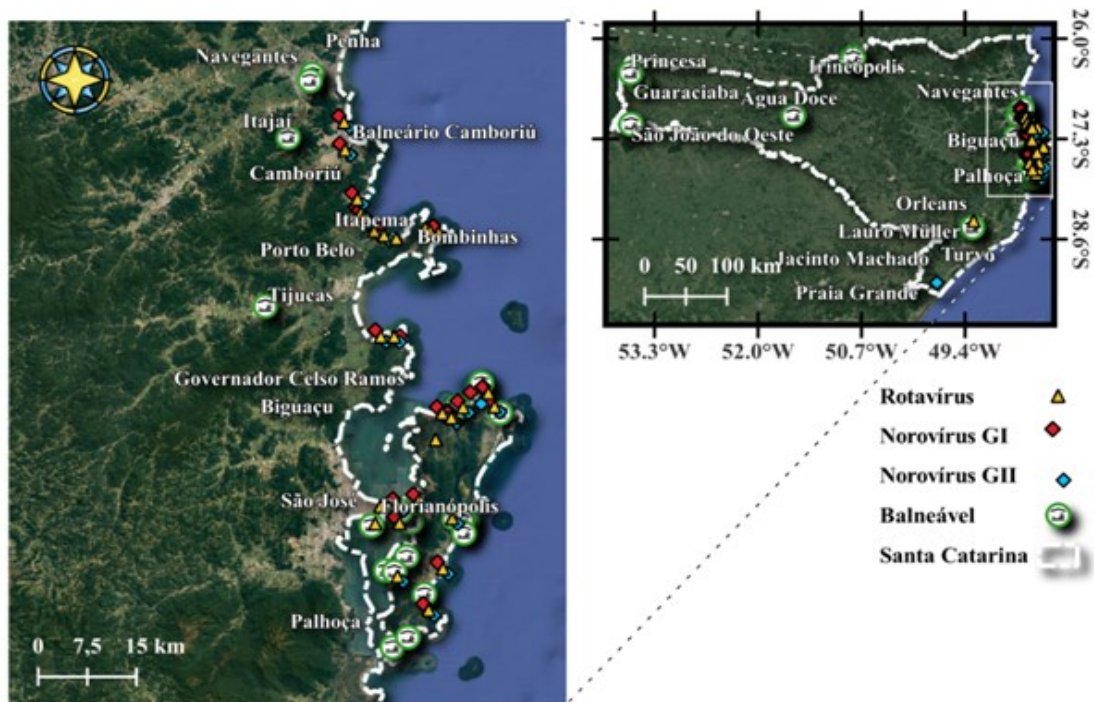
3.3.2 Análise estatística

O ano de 2018 não foi incluído na análise estatística por insuficiência de dados. Os resultados obtidos nos demais anos do estudo (2019, 2020 e 2021) foram analisados estatisticamente por meio do teste de independência qui-quadrado de Pearson (χ^2) e coeficiente de contingência como medida de associação entre variáveis qualitativas e do cálculo da correlação de Pearson nas quantitativas, com nível de significância de 5%. O software utilizado para tal foi o JAMOVI, versão 1.6.23.

4. RESULTADOS

Rotavírus (RVA) e Norovírus (genogrupos GI e GII) foram pesquisados em 170 amostras de água coletadas em municípios do Estado de Santa Catarina durante os anos de 2018, 2019, 2020 e 2021. A Figura 4 mostra os locais de coleta de água identificados no mapa do estado de Santa Catarina, bem como as detecções virais.

Figura 4 - Locais de coleta das amostras e detecções virais em Santa Catarina



Fonte: QGIS 3.24

Em 2018 foram analisadas 16 amostras de água própria para consumo humano, para confirmação de surto de DTHA, provenientes de oito municípios catarinenses. Em 2019, 70 amostras foram coletadas em cinco municípios: 37 provenientes de rio, 17 de mar, sete de estuário, três de lagoa e seis de água própria para consumo humano. Em 2020 houve coletas em sete municípios, totalizando 37 amostras, das quais 19 eram de rio, 12 de mar, duas de estuário, duas de lagoa e duas de água própria para consumo humano. Finalmente em 2021 coletaram-se 47 amostras em sete municípios: 24 de rio, 21 de mar e duas própria para consumo humano.

A Tabela 4 apresenta as amostras positivas para um ou para os dois vírus pesquisados em cada um dos municípios incluídos no estudo. Florianópolis foi o município com maior número de coletas realizadas ($n = 82$), sendo que em 52 % ($n = 43$) dessas, algum dos alvos ou os dois foram identificados (RVA e/ou HNoVs).

Tabela 4 Resultados globais para cada município durante os anos de 2018 a 2021.

Município	Nº de amostras	Nº (%) de amostras positivas*	Nº de amostras positivas / nº total de amostras por tipo de água				
			Rio	Mar	Estuário	Lagoa	Consumo humano
Florianópolis	82	43 (52%)	31/43	11/18	1/9	0/5	0/7
Itapema	18	11 (61%)	4/6	7/12	-	-	-
Balneário Camboriú	14	10 (71%)	9/10	1/4	-	-	-
Porto Belo	13	6 (46%)	6/13	-	-	-	-
Bombinhas	12	5 (41%)	-	5/12	-	-	-
Gov. Celso Ramos	12	7 (58%)	3/8	4/4	-	-	-
Itajaí	4	0 (0%)	-	-	-	-	0/4
São João do Oeste	3	0 (0%)	-	-	-	-	0/3
Canelinha	3	0 (0%)	-	-	-	-	0/3
Irineópolis	2	0 (0%)	-	-	-	-	0/2
Orleans	2	1 (50%)	-	-	-	-	1/2
Água Doce	1	0 (0%)	-	-	-	-	0/1
Guaraciaba	1	0 (0%)	-	-	-	-	0/1
Princesa	1	0 (0%)	-	-	-	-	0/1
Santa Rosa do Sul	1	1 (100%)	-	-	-	-	1/1
Urussanga	1	0 (0%)	-	-	-	-	0/1
Total	170	84 (49%)	53/80	28/50	1/9	0/5	2/26

Fonte: GAL/LACEN/SC

*número de amostras positivas para um ou para os dois vírus pesquisados (RAV e/ou HNoVs)

Em 2018, 93,7% das amostras apresentaram resultado não detectado para todos os alvos pesquisados. Em 2019, 50% dos resultados foram não detectáveis, assim como em 40,5% e em 44,8% em 2020 e 2021, respectivamente.

A Tabela 5 apresenta a porcentagem de resultados detectáveis para cada alvo por ano nos locais amostrados. Dentro do período de avaliação, 2019 foi o ano em que houve mais coletas (n=70) e 50% (n=35) delas apresentou algum resultado detectável. Desse montante (n=35), 94% correspondiam a RVA, 31% a HNoV GI e 34% a HNoV GII. Também ocorreram detecções significativas em 2021, quando foram analisadas 47 amostras com 45% (n=21) de resultados detectáveis e com maior detecção de HNoV GI e HNoV GII, 81% para ambos (n=17). RVA representou 95% das detecções naquele ano (n=20).

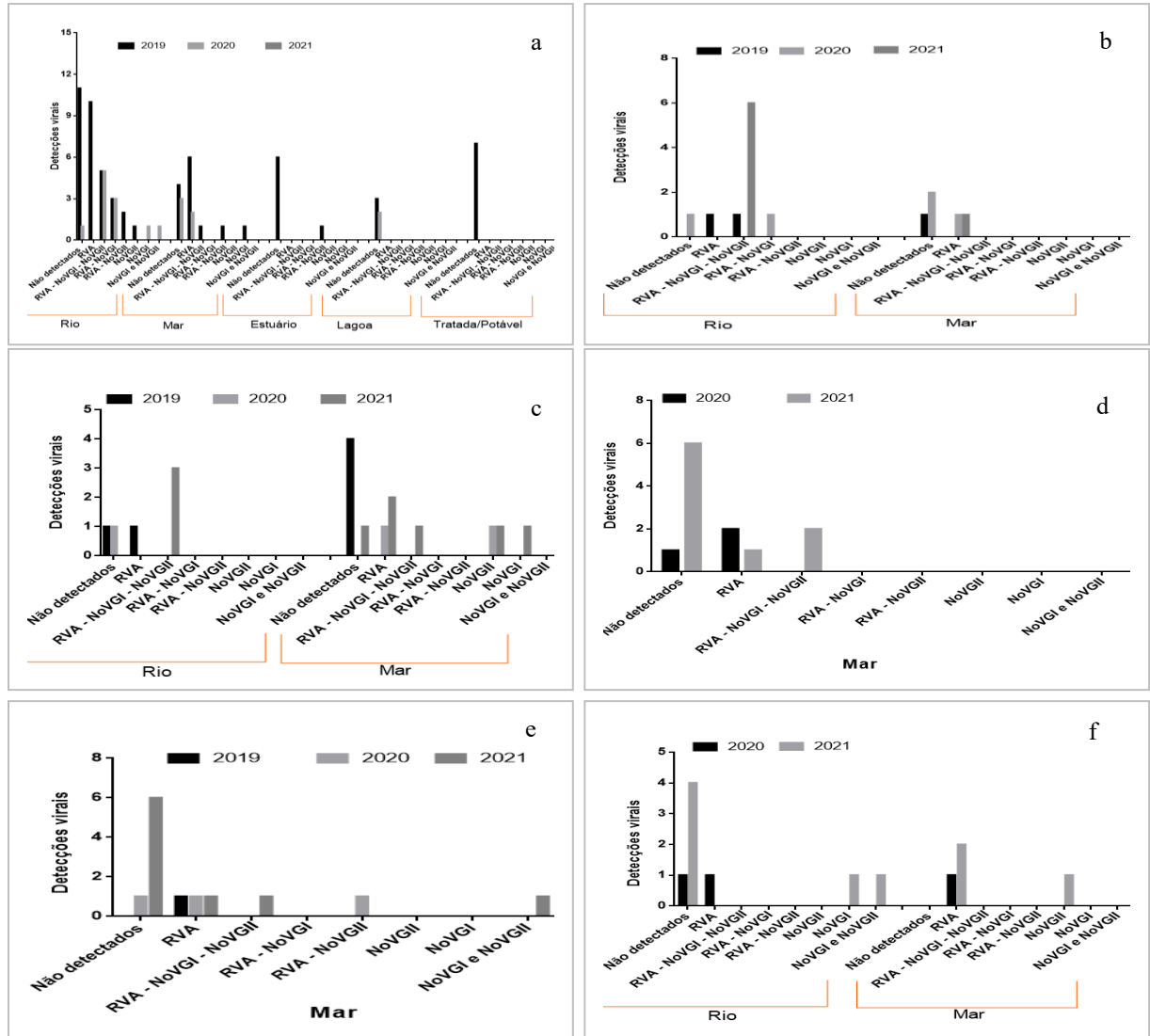
Tabela 5 Número e porcentagem de resultados detectáveis para os alvos pesquisados no período de 2018 a 2021 em todos os locais amostrados.

Número (%) de amostras detectáveis					
Alvos	2018	2019	2020	2021	Total
RVA-HNoV GI-HNoV GI	-	7/70 (10%)	5/37 (14%)	13/47 (28%)	25/170 (15%)
RVA	-	33/70 (47%)	19/37 (51%)	20/47 (43%)	72/170 (42%)
HNoV GI	-	10/70 (14%)	11/37 (30%)	17/47 (36%)	38/170 (22%)
HNoV GII	1/16 (6,3%)	12/70 (17%)	8/37 (22%)	17/47 (36%)	38/170 (22%)
RVA - HNoV GI	-	3/70 (4%)	4/37 (11%)	-	7/170 (4%)
RVA - HNoV GII	-	4/70 (6%)	1/37 (3%)	-	5/170 (3%)
HNoV GI - HNoV GII	-	-	1/37 (3%)	2/47 (4%)	3/170 (2%)

Fonte: GAL/LACEN/SC

Das amostras analisadas em 2018 apenas uma apresentou resultado detectável, confirmando a presença de HNoV GII, e por isso os dados desse ano não foram incluídos na análise estatística. A Figura 5 apresenta os resultados das detecções virais de acordo à matriz de água analisada, no período de 2019 a 2021 em Florianópolis (5a), Balneário Camboriú (5b), Itapema (5c), Bombinhas (5d), Porto Belo (5e) e Governador Celso Ramos (5f). Os demais municípios não integraram a avaliação estatística devido à insuficiência de dados.

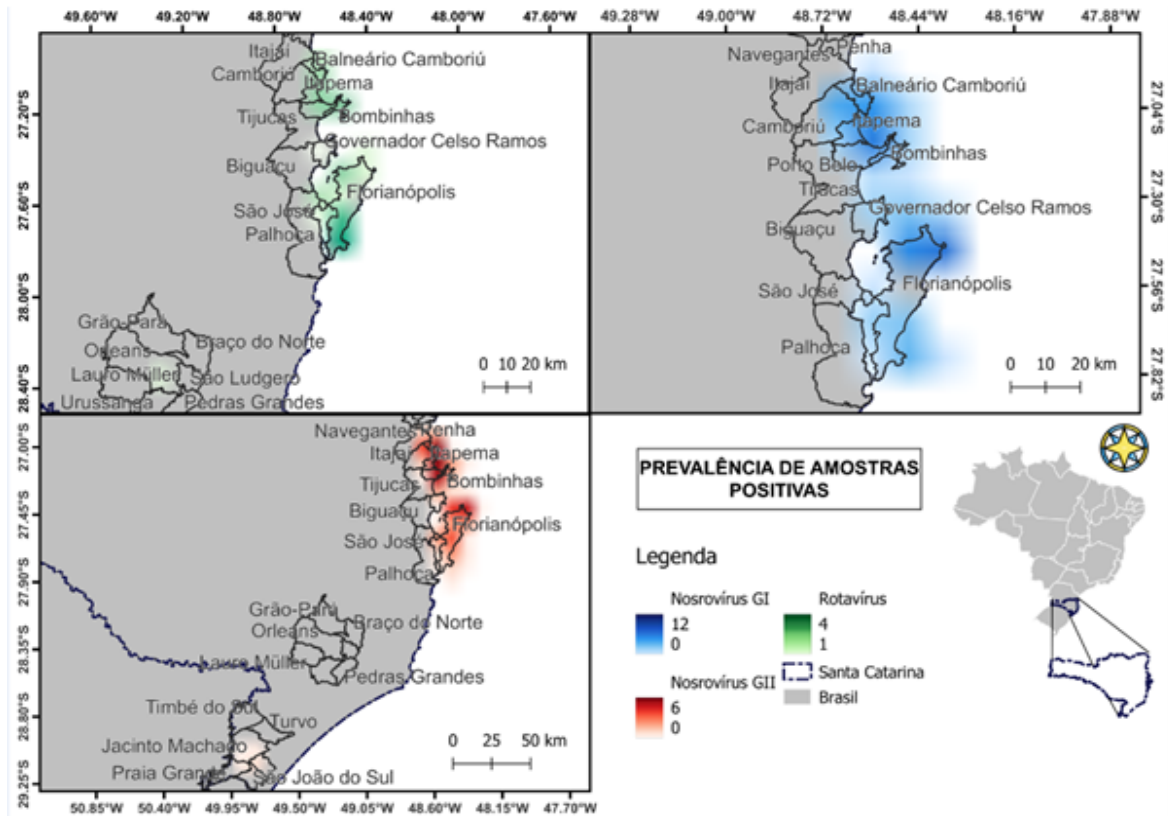
Figura 5 - Representação gráfica dos resultados das detecções virais, de acordo à matriz de água analisada, no período de 2019 a 2021 em: Florianópolis (a), Balneário Camboriú (b), Itapema (c), Bombinhas (d), Porto Belo (e) e Governador Celso Ramos (f).



Amostras provenientes de rio apresentaram mais detecções virais: 80 coletas com 84 alvos detectados (65% RVA, 63% HNoV GI e 46% HNoV GII). No período do estudo, o vírus entérico mais prevalente nas 170 amostras analisadas foi o RVA (42,3%), seguido pelo HNoV GI (22,9%) e pelo HNoV GII (22,3%), sendo que 12,5% das amostras não apresentaram detecção para nenhum alvo pesquisado. Observou-se que as maiores porcentagens de RVA foram 71% (n=14) e 47% (n=82) nos municípios de Balneário Camboriú e Florianópolis respectivamente. O HNoV GI foi mais detectado em Balneário Camboriú (57%, n=14) e em Itapema (28%, n=18), municípios que também apresentaram a maior porcentagem de detecção de HNoV GII: 50% (n=14) e 33% (n=18), respectivamente. As amostras dos municípios de

Bombinhas, Governador Celso Ramos e Porto Belo também tiveram predomínio de RVA: 42%, 33% e 38% respectivamente. A Figura 6 apresenta o mapa de prevalência das amostras positivas em relação aos municípios de coleta, dentro do período analisado.

Figura 6 - Mapa de prevalência das amostras positivas em municípios catarinenses quanto à detecção de RVA e HNoV GI e GII, no período de 2019 a 2021.



Fonte: QGIS 3.24

5. DISCUSSÃO

A ocorrência de vírus entéricos em águas residuais vem sendo estudada há muitos anos por vários pesquisadores e segue como uma ameaça à saúde pública em nível mundial, relacionada não somente à efetividade do tratamento de água e esgoto, como também ao consumo de alimentos cultivados em ambientes aquáticos contaminados. A crescente e desenfreada ocupação das áreas urbanas é a realidade que muitos países enfrentam atualmente, colocando à prova a estrutura de saneamento básico e facilitando a contaminação de mananciais por efluentes insuficientemente tratados ou por ligações de esgoto inadequadas

(ANA, 2017). Em Santa Catarina o cenário não é diferente (FONGARO *et al.*, 2015; GARBOSSA *et al.*, 2016; SUPLICY, 2018), por isso foram analisados estatisticamente os dados provenientes de amostras de água de rio, mar, estuário, lagoa e própria para consumo humano, coletadas em seis municípios do estado (Florianópolis, Balneário Camboriú, Itapema, Bombinhas, Porto Belo e Governador Celso Ramos) que, além de receber um acréscimo populacional importante durante a temporada de verão, também possuem na malacocultura uma fonte de renda significativa.

Neste estudo foi feito o levantamento dos resultados registrados no GAL/LACEN/SC relacionados à detecção de RVA e HNoVs (GI e GII) em água, no período entre 2018 e 2021. O vírus entérico mais prevalente nas 170 amostras analisadas foi o RVA (42,3%), seguido pelo HNoV GI (22,90%) e pelo HNoV GII (22,3%). O predomínio de RVA nas detecções poderia ser justificado pela presença de cepas de origem vacinal nos ambientes estudados, já que desde 2006 o MS introduziu a vacina oral de Rotavírus humano (VORH) no Programa Nacional de Imunização (PNI) a todas as crianças menores de 6 meses de idade e estudos conduzidos em outros locais demonstraram a presença de RVA de origem vacinal em amostras de águas e ostras.

Bucardo *et al* (2011) avaliaram a preponderância de RVA em águas residuais da Nicarágua após a introdução da vacina contra RVA e encontraram baixa prevalência em comparação aos HNoVs. A identificação de cepas de RVA em ostras e esgoto do Japão foi estudada por ITO *et al* (2020), que encontraram 54% das amostras de ostras com RVA selvagem, enquanto 14% e 31% relacionavam-se às cepas das vacinas Rotarix® e RotaTeq® respectivamente. Já as amostras de esgoto apresentaram 57% de RVA selvagem contra 35% de RVA vacinal proveniente da vacina RotaTeq®. O imunizante da marca Rotarix® não foi detectado em nenhuma amostra. Kittigul *et al* (2014) avaliaram a diversidade genética das cepas de RVA em água ambiental e mariscos na Tailândia e não encontraram cepas da mesma linhagem que as cepas das vacinas Rotarix® e RotaTeq® nas amostras analisadas. Para confirmar a hipótese de que o predomínio na detecção de RVA neste trabalho seja proveniente de cepas de origem vacinal, são necessários estudos futuros que as diferenciem das cepas de RVA selvagem.

No conjunto de amostras que compuseram este estudo, verificou-se que há forte associação entre a presença/ausência do RVA e a presença/ausência de pelo menos um HNoV ($p < 0,001$; coeficiente de contingência = 0,393). A presença de RVA e de pelo menos um HNoV

está correlacionada em todas as amostras de Florianópolis ($p < 0,001$) e de Balneário Camboriú ($p < 0,007$). Já os resultados das amostras provenientes de Itapema não indicaram correlação entre esses vírus ($p=0,705$), assim como nas coletadas em Bombinhas ($p=0,295$), Governador Celso Ramos ($p=0,480$) e Porto Belo ($p=0,640$). A existência de associação entre a presença de RVA e HNoVs nas amostras analisadas é um importante achado, já que mundialmente, são os principais causadores de surtos de gastroenterite transmitida pela ingestão de água (SHI *et al.*, 2020) e, ainda não figuram em legislação como parâmetros de qualidade a serem monitorados no Brasil.

Shi *et al* (2020) também encontraram correlação entre a presença de RVA e HNoV GII em um rio urbano de Tianjin (China) e sua prevalência em amostras de fezes humanas e sugerem que a pesquisa desses dois vírus pode servir para monitorar o predomínio de vírus entéricos humanos na população local. La Rosa *et al* (2017) demonstraram que os HNoVs estão entre os vírus mais detectados no rio Tibre, sendo, porém, o RVA menos comum naquele local. Ainda considerando a relação entre RVA, HNoV GI e HNoV GII, Prevost *et al* (2015) monitoraram a presença de vírus entéricos no rio Sena, em Paris, e verificaram que todas as amostras apresentavam RVA, HNoV GI e HNoV GII entre a população viral com mais abundância, sendo que tanto a carga quanto a frequência viral aumentavam à medida em que o rio se aproximava da foz, dentro da área urbana da cidade. Vergara *et al*, em um estudo de 2015, também encontraram os HNoVs, especificamente o HNoV GII, como o patógeno mais prevalente (49%) ao monitorar vírus entéricos e colifagos em uma bacia de água doce em Singapura.

No Brasil, surtos de DTHA representam ameaça à saúde da população, são classificados como Eventos de Saúde Pública (ESP) e fazem parte da lista nacional de agravos de notificação compulsória junto ao MS e às Secretarias de Saúde. De 2012 a 2021, 25,2% desses surtos foram decorrentes do consumo de água contaminada, sendo que 5,2% e 4,4% foram causados por HNoV e RVA respectivamente (BRASIL, 2022c). Segundo o Boletim Epidemiológico nº32 da Secretaria de Vigilância em Saúde (BRASIL, 2022b), de 2016 a 2019 somente 541 (21,6%) dos 2.504 casos de surtos tiveram os agentes etiológicos identificados, com HNoV e RAV listados entre os mais prevalentes, representando 8,3% e 6,9% respectivamente. De acordo ao banco de dados relativo ao registro de notificações de DTHA do MS, de 2007 a 2021 foram catalogados sete casos de surtos envolvendo esses vírus entéricos, sendo dois deles causados pela ingestão de água contaminada.

A Tabela 6 mostra o ano em que essas informações foram registradas, bem como os locais, o agente identificado e o produto consumido pelas pessoas acometidas, com destaque à ocorrência registrada em 2018, proveniente de Santa Rosa do Sul, que corresponde a uma das detecções realizadas no LACEN/SC naquele ano e citada anteriormente nesse trabalho.

Tabela 6 Casos de surtos de DTHA envolvendo vírus registrados no MS no período de 2007 a 2021.

Ano de Registro	Município	Agente	Local de ocorrência	Produto consumido
2010	Balneário Camboriú	Norovírus	Asilo	Doces e sobremesas
2011	Jaraguá do Sul	Norovírus	Outras Instituições	Água
2013	Caibi	Norovírus	Creche / Escola	Ignorado
2013	Chapecó	Rotavírus	Casos dispersos	Ignorado
2017	Florianópolis	Norovírus	Creche / Escola	Alimentos mistos
2018	Santa Rosa do Sul	Norovírus	Creche / Escola	Água
2019	Florianópolis	Norovírus	Residência	Inconclusivo

Fonte: DTHA Banco de dados 2007 – 2021/MS

Ao se considerar o tipo de água analisada, a análise estatística revelou que há associação entre a presença de RVA e de pelo menos um HNoV nas 80 amostras provenientes de rio ($p < 0,001$; coeficiente de contingência 0,4266), ao contrário das amostras de água marinha, cujos resultados demonstraram ser independentes quanto à ocorrência desses vírus ($p=1,000$). A presença de HNoV GI e HNoV GII está associada tanto nas amostras de rio ($p < 0,001$) quanto nas de mar ($p=0,003$). Considerando-se o ano de coleta, existe dependência entre RVA e pelo menos um HNoV nas 70 amostras coletadas em 2019 ($p < 0,001$; coeficiente de contingência 0,403), bem como nas 37 de 2020 ($p = 0,022$; coeficiente de contingência 0,352) e nas 47 de 2021 ($p = 0,003$; coeficiente de contingência 0,396). A mesma conclusão foi observada quando se considerou a relação de RVA e HNoV GI e de HNoV GI e HNoV GII nesses períodos. Já para RVA e HNoV GII o resultado difere, pois, a análise não indicou associação entre eles nos anos de 2019, 2020 e 2021 ($p < 0,001$; $p = 0,002$ e $p < 0,001$).

Alguns dos municípios onde houve coleta de água para este trabalho possuem áreas de cultivo de moluscos bivalves (Florianópolis, Balneário Camboriú, Itapema, Bombinhas, Porto Belo e Governador Celso Ramos), que devem ser monitoradas como parte dos procedimentos de gestão e controle sanitário da cadeia produtiva desse alimento, principalmente porque Santa Catarina é o maior produtor de moluscos bivalves do Brasil, respondendo por 95% da produção nacional (SUPLICY, 2018). A qualidade desses organismos está diretamente relacionada às

condições sanitárias do ambiente onde são cultivados, portanto, a manutenção da qualidade ambiental marinha é essencial para manter os resultados socioeconômicos e a consolidação deste setor em nossa região (SUPLICY, 2018). Vale salientar que o padrão microbiológico para classificação das áreas de cultivo de moluscos bivalves no Brasil é a contagem de *E. coli* na carne dos moluscos (BRASIL, 2012).

Segundo Campos *et al* (2015) o controle das gastroenterites provocadas por HNoVs, relacionadas ao consumo de moluscos contaminados, passa pelo conhecimento do destino desses vírus entéricos no ambiente marinho. Eles pesquisaram HNoVs humanos em ostras e água da costa sul da Inglaterra impactados por eventos frequentes de poluição de esgoto, mas não encontraram relação entre a contaminação de HNoV em ostras e os fluxos da maré, já que todas as amostras testadas apresentaram positividade tanto para HNoV GI quanto para HNoV GII. A ocorrência de agentes virais em moluscos da região sul da Itália também foi investigada por Fusco *et al* (2019), que encontraram HNoV GII em 39,7% das amostras, enquanto o HNoV GI apareceu em 10,8% delas. Segundo os autores, as cepas de HNoV GII têm alta prevalência na população local e isso se traduz em elevada carga quando comparadas às cepas GI, caracterizando a contaminação fecal dos ambientes de cultivo.

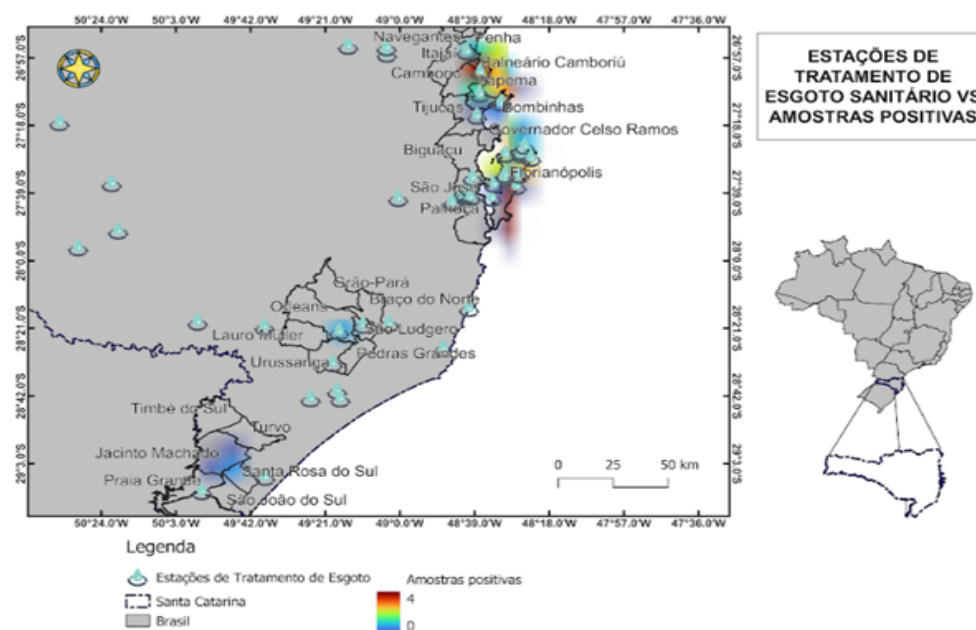
Em Florianópolis alguns trabalhos já avaliaram a presença de RVA e HNoVs em amostras de água de mar e de moluscos. O RVA foi detectado em 19% das amostras de água analisadas por Rigotto *et al* (2010), como também foi o segundo mais prevalente em amostras de berbigão avaliadas de novembro de 2014 a abril de 2016 (SOUZA *et al.*, 2018). Victoria *et al* (2010) encontraram resultados detectáveis para HNoVs, com prevalência do genogrupo GII (68%), em amostras de água marinha coletadas entre 2007 e 2008. Outro estudo avaliou o nível de contaminação de áreas de maricultura, resultando na detecção de HNOVs GII tanto nas amostras de água coletadas, quanto nas de moluscos (SOUZA *et al.*, 2012). Tanto HNoV GI quanto HNoV GII foram encontrados em amostras de água de mar em uma pesquisa realizada por Moresco *et al* em 2012. Para as 144 amostras de água do mar analisadas neste estudo, não foi observada correlação entre a presença de RVA, HNoV GI e HNoV GII e a presença de cultivo.

Na medida em que a ação humana aumenta, aumenta também o impacto negativo na qualidade da água dos recursos hídricos, pois esse ambiente pode sofrer mais contaminação por efluentes de estações de tratamento de água e esgoto ou pelo vazamento de esgoto sanitário. La Rosa *et al* (2017) concluíram que há correlação entre a pressão antrópica e a qualidade

viroológica da água do rio Tibre, na Itália, pois detectaram aumento na contaminação do rio na medida em que ele corre de áreas intocadas para áreas com atividade agrícola, industrial e urbana. Garbossa *et al* (2016) avaliaram a carga de coliformes termotolerantes presentes nas bacias que drenam para as Baías Norte e Sul da ilha de Santa Catarina e concluíram que seu aumento está associado à ampliação do número de pessoas residentes no local, como também à densidade populacional e ao percentual de área urbanizada. Além disso, verificaram que as bacias que tinham mais de 60% da área com cobertura de tratamento de esgoto apresentaram cargas maiores de coliformes totais por habitante do que aquelas com menos de 25% de cobertura. Concluíram que a contaminação de origem fecal não pode ser reduzida de forma eficaz pela infraestrutura de esgoto atual, prejudicando o controle de surtos microbiológicos provenientes do contato com águas recreativas e de cultivo de moluscos. A análise estatística do presente trabalho indicou que há associação entre densidade populacional e presença de RVA (com $p = 0,027$) e HNoV GI e GII ($p = 0,035$).

Em relação à existência de tratamento de esgoto, todos os municípios onde foram coletadas amostras de água para este trabalho possuem tratamento (IBGEa) e, ainda assim, 52% das amostras de Florianópolis apresentaram contaminação, como também 71% de Balneário Camboriú, 61% de Itapema, 46% de Porto Belo, 41% de Bombinhas e 58% de Governador Celso Ramos. A Figura 7 mostra os municípios onde foram detectadas amostras positivas em relação à existência de tratamento de esgoto.

Figura 7 - Mapa relacionando os locais onde há tratamento de esgoto e os resultados na detecção de RVA e HNoV GI e GII



Fonte: QGIS 3.24

O processo de tratamento de esgoto integra operações físicas e processos químicos e biológicos, com o objetivo de remover a carga poluente e devolver o efluente tratado à natureza, em conformidade com os padrões estabelecidos na legislação (VON-SPERLING, 1996). Entretanto, as etapas empregadas podem não reduzir suficientemente a contaminação microbiológica presente. Haramoto *et al* (2006) compararam a ocorrência de norovírus humanos e bactérias indicadoras em esgoto bruto, esgoto tratado antes da cloração e efluente final após a cloração, coletados em Tóquio, no Japão. Eles verificaram que nas amostras de esgoto bruto que passaram pelo tratamento físico e biológico, a taxa de remoção de microrganismos foi entre 2 a 3 \log_{10} . Em contra partida, a taxa de remoção de bactérias por cloração foi inferior a 1 \log_{10} .

Qiu *et al* (2015) avaliaram amostras de águas residuais tratadas na estação de Alberta, Canadá e obtiveram resultados detectáveis em 95% dos efluentes submetidos à desinfecção por luz ultravioleta. Simmons *et al* (2011) pesquisaram a remoção de enterovírus (EV) e HNoV GII em 32 amostras coletadas em uma estação de tratamento que utiliza biorreator de membrana e verificaram que todas as amostras analisadas (100%) ainda apresentavam EV, enquanto 20 (63%) ainda eram positivas para HNoV GII. Outro estudo avaliou a eliminação de vírus em

duas estações de tratamento de água de Portugal e demonstrou presença de RNA viral em 14 das 27 amostras de água superficial e em 21 das 36 amostras de água potável analisadas, com detecção mais frequente de HNoV GII em ambos os casos (SALVADOR *et al.*, 2020).

Adicionalmente, amostras advindas de locais com tratamento de esgoto implementado podem apresentar resultados detectáveis devido a fatores inerentes às bacias hidrográficas ali existentes. O estado de Santa Catarina possui 10 regiões hidrográficas (RHs) bem distribuídas, sendo que a RH 7 e a RH 8 são as que compreendem as bacias hidrográficas onde estão localizados os municípios litorâneos que fizeram parte deste trabalho. O escoamento dos rios próximos à área de litoral sofre efeito da maré alta, já que a água salina penetra pelas camadas inferiores da terra em direção às suas nascentes. Durante a maré baixa, o curso d'água passa a escoar normalmente em direção ao mar (SANTA CATARINA, 2018).

A RH 7 é formada principalmente pela bacia do Rio Itajaí-Açú, mas inclui também drenagens independentes que correm para o mar, como por exemplo, a do rio Camboriú, que escoam pelas cidades de Camboriú e Balneário Camboriú. A RH 8 por sua vez, compreende 4 bacias hidrográficas que fluem em direção ao mar, drenando entre outras áreas, a região de Florianópolis (SANTA CATARINA, 2018). Essas características das bacias hidrográficas, combinadas com o adensamento populacional e com a inadequação da infraestrutura de saneamento básico, podem justificar os resultados detectáveis obtidos nas amostras de municípios que apresentam tratamento de esgoto, pois os pontos de coleta das amostras podem estar recebendo contaminação advinda de ligações clandestinas ou de municípios vizinhos drenados pela mesma bacia.

Finalmente, considerando-se o binômio tratamento de esgoto x densidade populacional, a análise estatística foi aplicada a fim de verificar sua correlação com a proporção de amostras detectáveis. No caso de proporção de amostras com vírus x percentual de esgoto tratado, a correlação é moderada a fortemente positiva (RVA $r=0.765$, $p=0.076$; HNoV GI $r=0.691$, $p=0.128$; HNoV GII $r=0.646$, $p=0.166$; HNoV GI ou GII $r=0.549$, $p=0.259$). Já no caso proporção de amostras com vírus x densidade populacional, a correlação é fortemente positiva (RVA $r=0.935$, $p=0.003$; HNoV GI $r=0.991$, $p<.001$; HNoV GII $r=0.969$, $p<.001$; HNoV GI ou GII $r=0.927$, $p=0.004$).

A análise concluiu que para os dados levantados neste estudo, os coeficientes de correlação entre a densidade populacional e a presença de vírus em uma amostra são maiores do que os coeficientes de correlação entre o percentual de esgoto tratado e a presença de vírus

em uma amostra. As fontes de poluição de origem humana são as causas principais da piora da qualidade das águas superficiais, principalmente em áreas utilizadas para maricultura (SOUZA *et al.*, 2022). Por isso, o investimento em infraestrutura e o monitoramento desses locais são fundamentais.

O acesso ao saneamento básico constitui-se um dos fatores determinantes na qualidade viral das matrizes aquáticas, sendo que os dados sobre a distribuição e a prevalência de vírus entéricos nesses ambientes auxiliam no controle das DTHs. A falta de cobertura de serviços de tratamento de água e esgoto, ou a ineficácia dos sistemas existentes em reduzir adequadamente a carga patogênica dos efluentes, vem sendo relacionada ao aumento da circulação de vírus entéricos no ambiente e à contaminação viral de moluscos bivalves (PRADO *et al.*, 2014; McLOAD *et al.*, 2017; FUSCO *et al.*, 2019).

A pesquisa de vírus, principalmente em pontos utilizados para malacocultura, pode servir para uma avaliação mais holística da qualidade da água, bem como auxiliar a tomada de decisão dentro da gestão epidemiológica, melhorando o planejamento de ações para controle de riscos e proteção da saúde da população (FARKAS *et al.*, 2020).

6. CONCLUSÃO

Ficou demonstrado que o vírus entérico mais prevalente nas 170 amostras analisadas foi o RVA, seguido pelo HNoV GI e pelo HNoV GII. As amostras provenientes de rio apresentaram o maior número de detecções, também com a mesma sequência de prevalência: RVA, HNoV GI e HNoV GII, sendo que nessa matriz aquática foi demonstrada associação entre a presença de RVA e de HNoV, uma constatação importante que pode evidenciar a insuficiência da infraestrutura sanitária ou o despejo indevido de esgoto não tratado nesse manancial. Já para as amostras de mar a correlação entre aqueles vírus não foi observada, como também não houve relação entre as detecções e a presença de áreas de cultivo de moluscos bivalves. Apesar disso, das 50 amostras de água marinha, 28 foram positivas para algum dos alvos pesquisados, revelando a necessidade de um monitoramento mais abrangente nos locais utilizados para malacocultura.

As maiores porcentagens de RVA foram encontradas nos municípios de Balneário Camboriú e Florianópolis. O HNoV GI foi mais detectado em Balneário Camboriú e em Itapema, municípios que também apresentaram a maior porcentagem de detecção de HNoV GII respectivamente. As amostras dos municípios de Bombinhas, Governador Celso Ramos e Porto

Belo também tiveram predomínio de RVA após as análises. Este estudo também encontrou forte associação de proporcionalidade entre a densidade populacional dos municípios e a presença de vírus entéricos, especialmente de RVA. Além disso, evidenciou que a proporção de amostras com vírus detectados correlaciona-se positivamente (é proporcional) com o percentual de esgoto tratado. A correspondência com a presença de tratamento de esgoto precisa ser cuidadosamente avaliada, já que os pontos de coleta podem estar recebendo contaminação advinda de redes de esgotamento clandestinas ou da drenagem de regiões adjacentes inseridas na mesma bacia hidrográfica.

Considerando que a qualidade microbiológica de águas superficiais reflete o estado de saúde da população, que RVA e HNoVs estão entre os principais agentes causadores de DTHA e que sua detecção em águas superficiais pode evidenciar destinação inadequada de esgoto, a inclusão do seu monitoramento nos planos de contingência de surtos deve ser urgentemente considerada pelos órgãos de saúde pública.

7. REFERÊNCIAS

ANA – Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico. **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas**. Brasília: ANA, 2017. Disponível em: <<http://atlasesgotos.ana.gov.br/>>. Acesso em: 10 ago. 2022.

BISHOP R. F.; KIRKWOOD, C. D. Enteric Viruses. **Encyclopedia of Virology** (third edition).116 -123. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123744104003861>>. Acesso em 01 de jul. de 2022. 10.1016/B978-0-12-819400-3.00040-5. 10.1016/B978-012374410-4.00386-1

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000**. Brasília, DF: Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2000. Disponível em: <http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/Resolu%C3%A7%C3%A3o_Conama_274_Balneabilidade.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2022.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília, DF: Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2005a. Disponível em: <http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2022.

BRASIL. Casa Civil. **Decreto nº 5.564, de 19 de outubro de 2005**. Brasília, DF: Casa Civil. 2005b. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/decreto/D5564.htm#:~:text=Institui%20o%20Comit%C3%AA%20Nacional%20de,e,que%20lhe%20confere%20o%20art.>>. Acesso em: 18 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 1.602 de 17 de julho de 2006**. Brasília, DF: Ministério da Saúde. 2006. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt1602_17_07_2006.html>. Acesso em: 18 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011**. Brasília, DF: Ministério da Saúde. 2011a. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 10 mai. 2021.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Brasília, DF: Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2011b. Disponível em: <https://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/RE%20CONAMA%20403-2011_Lancamento%20de%20Efluentes.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Interministerial nº 07**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2012. Disponível em: <<http://www.cade.gov.br/https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/arquivos-programas>>

sanitarios/in_inter_mpa_mapa_07_2012_programanacionalcontrolehigienicosanitariomolusc
osbivalves_retificada.pdf>. Acesso em: 09 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria de Consolidação nº5 de 28 de setembro de 2017**. Brasília, DF: Ministério da Saúde. 2017. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html>. Acesso em: 09 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 888 de 04 de maio de 2021**. Brasília, DF: Ministério da Saúde. 2021a. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html>. Acesso em: 09 mai. 2021.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS)**. Brasília, DF: Ministério do Desenvolvimento Regional. 2021b. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/diagnosticos>>. Acesso em: 15 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA)**. Brasília, DF: Ministério da Saúde. 2022a. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>>. Acesso em: 05 mai. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico nº 32**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022b. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/doencas-transmitidas-por-alimentos>>. Acesso em: 15 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil**. Informe 2022. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022c. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/apresentacao-surtos-dtha-2022.pdf/view>>. Acesso em: 15 abr. 2022.

BOFILL-MAS, S.; RUSINÖL, M. Recent trends on methods for the concentration of viruses from water samples. **Environmental Science and Health**. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468584420300076>>. Acesso em 01 de jul. de 2020. 10.1016/j.coesh.2020.01.006

BOUSSETINE, R. et al. Waterborne Transmission of Enteric Viruses and Their Impact on Public Health. **Emerging and Reemerging Viral Pathogens**. Vol 1. Chapter 40. 907-932. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128194003000405>>. Acesso em 01 de jul. de 2022. 10.1016/B978-0-12-819400-3.00040-5

BUCARDO, F. et al. Low Prevalence of Rotavirus and High Prevalence of Norovirus in Hospital and Community Wastewater after Introduction of Rotavirus Vaccine in Nicaragua. **Plos One** 6(10): e25962. 2011. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0025962>>. Acesso em 01 de fev. de 2022. 10.1371/journal.pone.0025962

CALGUA, B. et al. Detection and quantification of classic and emerging viruses by skimmed-milk flocculation and PCR in river water from two geographical areas. **Water Research**, 47:2797-2810. Ed. Elsevier. 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135413001474>>. Acesso em 01 de nov. de 2020. 10.1016/j.watres.2013.02.043

CAMPOS, C. et al. Fate of Human Noroviruses in Shellfish and Water Impacted by Frequent Sewage Pollution Events. **Environmental Science and Technology**. 2015. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.5b01268>>. Acesso em 27 de jul. de 2021. 10.1021/acs.est.5b01268

CARNEIRO, L. A.; PETTAN-BREWER, C. One Health: Conceito, História e Questões Relacionadas – Revisão e Reflexão. **Editora Científica Edital**. 2021. Disponível em: <<https://downloads.editoracientifica.org/articles/210504857.pdf>>. Acesso em 27 de jun. de 2022. 10.1021/acs.est.5b01268

Cerca de 350 mil turistas já passaram por Florianópolis nesta temporada de verão. **Balanco Geral Florianópolis ND+**. 03 janeiro 2022b. Disponível em: <<https://ndmais.com.br/turismo/temporada-2022-cerca-de-350-mil-turistas-passaram-em-florianopolis-ate-agora/>>. Acesso em 20 de fev. de 2022.

CESA, M. et al. Waterborne diseases classification and relationship with social-environmental factors in Florianópolis city – Southern Brazil. **Journal of Water and Health**, 14 (2): 340–348. 2016. Disponível em: <<https://iwaponline.com/jwh/article/14/2/340/28300/Waterborne-diseases-classification-and>>. Acesso em 13 de jun. de 2022. 10.2166/wh.2015.266

CHHABRA, P. et al. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. **Journal of General Virology**, 100 (10): 1393-1406. 2019. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.001318>>. Acesso em 04 de ago. de 2022. 10.1099/jgv.0.001318

CIOFFI, B. et al. Environmental surveillance of human enteric viruses in wastewaters, groundwater, surface water and sediments of Campania Region. **Regional Studies in Marine Science**, 38. Ed. Elsevier, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352485520304965>>. Acesso em 17 de nov. de 2020. 10.1016/j.rsma.2020.101368

FARKAS, K. et al. Viral indicators for tracking domestic wastewater contamination in the aquatic environment. **Water Research**, 181:115926. Ed. Elsevier, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135420304632>>. Acesso em 05 de fev. de 2021. 10.1016/j.watres.2020.115926

FECOMÉRCIO. Demanda Turística. **Observatório do Turismo de Santa Catarina**. 2019. Disponível em: <http://observasctur.com.br/demanda-turistica/>. Acesso em 25 de jan. de 2022.

Florianópolis é o nono destino mais procurado do país neste feriado de Corpus Christi.

Conteúdo especial, Branded Studio ND+. 15 junho 2022a. Disponível em:

<<https://ndmais.com.br/turismo/florianopolis-e-a-nono-destino-mais-procurado-do-pais-neste-feriado-de-corpus-christi/>>. Acesso em 20 de junho. de 2022.

FLORIANÓPOLIS. Secretaria Municipal de Infraestrutura. **Plano Municipal Integrado de Saneamento Básico - revisão**. Florianópolis, SC: Secretaria Municipal de Infraestrutura. 2021. Disponível em:

https://www.pmf.sc.gov.br/arquivos/arquivos/pdf/29_01_2021_11.21.18.389022061182b941b3d6d84046750119.pdf. Acesso em: 10 mai. 2022.

FONGARO, G. et al. Human and animal enteric virus in groundwater from deep wells, and recreational and network water. **Environmental Science and Pollution Research**. 2015.

Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/281261509_Human_and_animal_enteric_virus_in_groundwater_from_deep_wells_and_recreational_and_network_water>. Acesso em 13 de nov. de 2020. DOI: 10.1007/s11356-015-5196-x

FUSCO, G. et al. *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Hepatitis A Virus* and *Norovirus* in bivalve molluscs in Southern Italy. **Veterinaria Italiana**, 49. 2013. Disponível em: <https://www.izs.it/vet_italiana/2013/49_1/55.pdf>. Acesso em 14 de abr. de 2022.

FUSCO, G. et al. Detection of Hepatitis A Virus and Other Enteric Viruses in Shellfish Collected in the Gulf of

Naples, Italy. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2019. Ed. MDPI. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-4601/16/14/2588>>. Acesso em 02 de fev. de 2022. 10.3390/ijerph16142588

GARBOSSA, L. H. P.; SOUZA, R. V.; CAMPOS, C. J. A.; VANS, A.; VIANNA, L. F. N.; RUPP, G. S. Thermotolerant coliform loadings to coastal areas of Santa Catarina (Brazil) evidence the effect of growing urbanization and insufficient provision of sewerage infrastructure. **Environmental Monitoring and Assessment**. 2016. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10661-016-5742-0>>. Acesso em 05 de nov. de 2020. DOI: 10.1007/s10661-016-5742-0

GRIFFITH, J. et al. Epidemiologic evaluation of multiple alternate microbial water quality monitoring indicators at three California beaches. **Water Research**, 11852. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135416300951>>. Acesso em 02 de abr. de 2022. 10.1016/j.watres.2016.02.036

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Atlas de Saneamento. Abastecimento de água e esgotamento sanitário**. 3ª ed. 2017. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/apps/atlas_saneamento/pdf/01_00_Texto.pdf>. Acesso em 05 de dez. de 2020.

IBGEa. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/30/84366?ano=2017>>. Acesso em 05 de dez. de 2020.

IBGEb. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico – Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário**. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101734.pdf>>. Acesso em 05 de dez. de 2020.

HARAMOTO, E. et al. Seasonal profiles of human noroviruses and indicator bacteria in a wastewater treatment plant in Tokyo, Japan. **Water Science & Technology**, 54(11), 301–308. 2006. Disponível em: <<https://iwaponline.com/wst/article-abstract/54/11-12/301/13887/Seasonal-profiles-of-human-noroviruses-and?redirectedFrom=PDF>>. Acesso em 15 de ago. de 2022. 10.2166/wst.2006.888

HARAMOTO, E. et al. A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. **Water Research**, 135, 168-186. 2018. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/29471200>>. Acesso em 15 de mai. de 2022. 10.1016/j.watres.2018.02.004

ITO, E. et al. Detection of Rotavirus Vaccine Strains in Oysters and Sewage and Their Relationship with the Gastroenteritis Epidemic. **Applied and Environmental Microbiology**, 87. 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8117762/>>. Acesso em 10 de fev. de 2022. 10.1128/AEM.02547-20

KAGEYAMA, T. et al. Broadly Reactive and Highly Sensitive Assay for Norwalk-Like Viruses Based on Real-Time Quantitative Reverse Transcription-PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, 41(4), 1548-1557. 2003. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.41.4.1548-1557.2003>>. Acesso em 23 de nov. de 2021. 10.1128/JCM.41.4.1548-1557.2003.

KATAYAMA, H.; SHIMASAKI, A.; OHGAKI, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, 68(3), 1033-1039. 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC123733/>>. Acesso em: 28 de out. de 2020. 10.1128/AEM.68.3.1033-1039.2002.

KITTIGUL, et al. Genetic Diversity of Rotavirus Strains Circulating in Environmental Water and Bivalve Shellfish in Thailand. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2014. Ed. MDPI. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1660-4601/11/2/1299>>. Acesso em 09 de fev. de 2022. 10.3390/ijerph110201299

KORAJKIC, A; McMinn, B. R.; HARWOOD, V. J. Relationships between Microbial Indicators and Pathogens in Recreational Water Settings. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 2018. Ed. MDPI. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6313479/>>. Acesso em 14 de abr. de 2022. 10.3390/ijerph15122842

LA ROSA, G. et al. The impact of anthropogenic pressure on the virological quality of water from the Tiber River, Italy. **Letters in Applied Microbiology**. 2017. Disponível em:

<<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/lam.12774>>. Acesso em 09 de fev. de 2022. 10.1111/lam.12774

LE GUYADER, F. S.; ATMAR, R. L.; LE PENDU, J. Transmission of viruses through shellfish: When specific ligands come into play. **Current Opinion in Virology**, 2(1), 103–110, 2012. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625711001635>>. Acesso em 20 de nov. de 2020. 10.1016/j.coviro.2011.10.029

MESQUITA, T. C. R. et al. Gestão descentralizada de soluções de esgotamento sanitário no Brasil: aspectos conceituais, normativos e alternativas tecnológicas. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, 56, 46-66, 2021. Disponível em: <

<https://revistas.ufpr.br/made/article/view/72908>>. Acesso em 10 de ago. de 2022. 10.5380/dma.v56i0.72908

MORESCO, Vanessa. **Deteção e quantificação de patógenos entéricos virais em amostras de água do mar** (Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências Biológica da Universidade Federal de Santa Catarina); orientador Profa. Dra. Célia Regina Monte Barardi. Florianópolis, 2011. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/95038>>. Acesso em 23 de mai. de 2020.

MORESCO, V. et al. Microbiological and physicochemical analysis of the coastal waters of southern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. 2012. Disponível em: <

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X11005662>>. Acesso em 20 de abr. de 2021. 10.1016/j.marpolbul.2011.10.026.

MURPHY, H. et al. Review: Epidemiological evidence of groundwater contribution to global enteric disease, 1948–2015. **Hydrogeology Journal**. 2017. Disponível em: <

<https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2017HydJ...25..981M/abstract>>. Acesso em 20 de abr. de 2022. 10.1007/s10040-017-1543-y.

ONU, 2015. Plataforma Agenda 2030. Água Potável e Saneamento. 2015. Disponível em: <<http://brasil.un.org/pt-br/sdgs/6#>>. Acesso em: 29/10/2020.

PANG, X. et al. Prevalence, levels and seasonal variations of human enteric viruses in six major rivers in Alberta. **Water Research**. 2019. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135419300880>>. Acesso em 02 de nov. de 2020. 10.1016/j.watres.2019.01.034.

PREVOST, B. et al. Large scale survey of enteric viruses in river and waste water underlines the health status of the local population. **Environment International**, 79. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412015000550>>. Acesso em 13 de jan. de 2022. 10.1016/j.envint.2015.03.004

QIU, Y. et al. Assessment of human virus removal during municipal wastewater treatment in Edmonton, Canada. **Journal of Applied Microbiology**. 2015. Disponível em:

<<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jam.12971>>. Acesso em 13 de mai. de 2022. 10.1111/jam.12971

RIGOTTO, C. et al. Assessment of adenovirus, hepatitis A virus and rotavirus presence in environmental samples in Florianópolis, South Brazil. **Journal of Applied Microbiology**. 2010. Disponível em: <<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2010.04827.x>>. Acesso em 13 de mai. de 2022. 10.1111/j.1365-2672.2010.04827.x

SALVADOR, D. et al. Monitoring Waterborne Pathogens in Surface and Drinking Waters. Are Water Treatment Plants (WTPs) Simultaneously Efficient in the Elimination of Enteric Viruses and Fecal Indicator Bacteria (FIB)? **Water**. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4441/12/10/2824>>. Acesso em 10 de fev. de 2022. 10.3390/w12102824

Santa Catarina desponta no turismo nacional e internacional. **Negócios SC**. 23 fevereiro 2021. Disponível em: <<https://negociossc.com.br/noticia/santa-catarina-desponta-no-turismo-nacional-e-internacional/#:~:text=A%20for%C3%A7a%20do%20turismo%20em,1%20bilh%C3%B5es%20na%20economia%20catarinense>>. Acesso em 20 de fev. de 2022.

SANTA CATARINA. Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca. Conselho de Desenvolvimento Rural – CEDERURAL. Câmara Setorial da Maricultura. **Relatório do workshop sobre saneamento básico e maricultura**. Santa Catarina: Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca, 2017. 7p.

SANTA CATARINA. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Econômico Sustentável. Diretoria de Recursos Hídricos. **Recursos Hídricos de Santa Catarina**. Santa Catarina: Secretaria de Estado do Desenvolvimento Econômico Sustentável, 2018. Disponível em: <<https://www.aguas.sc.gov.br/base-documental/bacias-hidrograficas-do-estado>>. Acesso em 20 de ago. de 2022.

SHI, D. et al. Levels of human Rotaviruses and Noroviruses GII in urban rivers running through the city mirror their infection prevalence in populations. **Science of the Total Environment**. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720357326>>. Acesso em 11 de nov. de 2021. 10.1016/j.scitotenv.2020.142203

SIMMONS, F. J.; KUO, D. H. W.; XAGORARAKI, I. Removal of human enteric viruses by a full-scale membrane bioreactor during municipal wastewater processing. **Water Research**, 45. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135411000467>>. Acesso em 02 de fev. de 2022. 10.1016/j.watres.2011.02.001

SOUZA, D. et al. Presence of enteric viruses, bioaccumulation and stability in *Anomalocardia brasiliensis* clams. **International Journal of Food Microbiology**. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651311003113?via%3Dihub>>. Acesso em 11 de abr. de 2021. 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.08.004

SOUZA, D. et al. Evaluation of tropical water sources and mollusks in southern Brazil using microbiological, biochemical, and chemical parameters. **Ecotoxicology and Environmental**

Safety. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147651311003113?via%3Dihub>>. Acesso em 11 de nov. de 2021. 10.1016/j.ecoenv.2011.09.018

SOUZA, R. et al. Prevalence, distribution and environmental effects on faecal indicator bacteria and pathogens of concern in commercial shellfish production areas in a subtropical region of a developing country (Santa Catarina, Brazil). **Environmental Monitoring and Assessment**. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35303750/>>. Acesso em 02 de jun. de 2022. 10.1007/s10661-022-09950-5

SUPLICY, F. Plano Estratégico para Desenvolvimento Sustentável da Maricultura Catarinense 2018-2028. **EPAGRI**. 2018. Disponível em: <https://docweb.epagri.sc.gov.br/website_epagri/Cedap/Publicacao-Seriada/15-Publicacao-seriada-maricultura-gestao.pdf>. Acesso em 29 de out. de 2020.

TROEGER, C. et al. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. 2016. **The Lancet Infectious Diseases**. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30243583/>>. Acesso em 01 de nov. de 2020. 10.1016/S1473-3099(18)30362-1

UNESCO. The United Nations world water development report, 2017: Wastewater: the untapped resource. 2017. Disponível em: <<https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247153?posInSet=5&queryId=N-EXPLORE-7383672f-bf39-4492-bdc3-40e064191d3f>>.

VON-SPERLING, M. **Princípios Básicos do Tratamento de Esgotos**. Belo Horizonte: Desa, 1996.

VERGARA, et al. Evaluation of FRNA coliphages as indicators of human enteric viruses in a tropical urban freshwater catchment. **Water Research**, 79. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135415002511>>. Acesso em 02 de abr. de 2022. 10.1016/j.watres.2015.04.022

VICTORIA, M. et al. Assessment of norovirus contamination in environmental samples from Florianópolis City, Southern Brazil. **Journal of Applied Microbiology**. 2009. Disponível em: <<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2009.04646.x>>. Acesso em 13 de mai. de 2022. 10.1111/j.1365-2672.2009.04646.x

WHO (2020a). World Health Organization. **Sanitation**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sanitation>>. Acesso em 20 de mai. de 2022.

WHO (2020b). World Health Organization. **The Global Health Observatory**. Disponível em: <<https://www.who.int/data/gho/data/countries>>. Acesso em 20 de mai. de 2022.

ZAHEDI, A. et al. Wastewater-based epidemiology—surveillance and early detection of waterborne pathogens with a focus on SARS-CoV-2, Cryptosporidium and Giardia.

Parasitology Research. 2021. Disponível em:

<<https://go.gale.com/ps/i.do?p=AONE&u=googlescholar&id=GALE|A683021337&v=2.1&it=r&sid=googleScholar&asid=48fb3a26>>. Acesso em 02 de nov. de 2021. 10.1007/s00436-020-07023-5

ZENG et al. One-step quantitative RT-PCR for the detection of rotavirus in acute gastroenteritis. **Journal of Virological Methods**, 153. 2008. Disponível em:

<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18765254/>>. Acesso em 02 de nov. de 2021. 10.1016/j.jviromet.2008.08.004