

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Carolina Larissa Machado

**AVALIAÇÃO DE MICRORGANISMOS PATOGENICOS EM AEROSSÓIS
GERADOS EM DIFERENTES PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ESGOTO**

Belo Horizonte
2022

Carolina Larissa Machado

**AVALIAÇÃO DE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS EM AEROSSÓIS
GERADOS EM DIFERENTES PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ESGOTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Avaliação e gerenciamento de impactos e de riscos ambientais

Orientador: César Rossas Mota Filho

Belo Horizonte
2022

M149a

Machado, Carolina Larissa.

Avaliação de microrganismos patogênicos em aerossóis gerados em diferentes processos de tratamento de esgoto [recurso eletrônico] / Carolina Larissa Machado. – 2022.

1 recurso online (137 f. : il., color.) : pdf.

Orientador: César Rossas Mota Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Bibliografia: f. 129-137.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Saneamento - Teses. 3. Adenovirus - Teses. 4. COVID-19 (Doença) - Teses. 5. Microorganismos patogênicos - Teses. 6. Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) - Teses. 7. Haemophilus influenza - Teses. 8. Pseudomonas aeruginosa - Teses. 9. Estafilococos áureos - Teses. I. Mota Filho, César Rossas. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.

CDU: 628(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENGENHARIA
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO, MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Avaliação de Microrganismos Patogênicos em Aerossóis Gerados em Diferentes Processos de Tratamento de Esgoto"

Carolina Larissa Machado

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **20/07/2022**, pela Banca Examinadora designada pelo **Colegiado do Programa de Pós-Graduação Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos** da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Prof. Dr. Cesar Rossas Mota Filho

UFMG/DESA - Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Ramiro Gonçalves Etchepare

UFPR - Universidade Federal do Paraná

Dr. Gustavo Rafael Collere Possetti

SANEPAR - Companhia de Saneamento do Paraná

Belo Horizonte, 20 de julho de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Rafael Collere Possetti, Usuário Externo**, em 21/07/2022, às 23:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cesar Rossas Mota Filho, Professor do Magistério Superior**, em 13/12/2022, às 15:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ramiro Gonçalves Etchepare, Usuário Externo**, em 20/12/2022, às 14:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Priscilla Macedo Moura, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 29/12/2022, às 07:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1614820** e o código CRC **B2DADAF7**.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me permitiu chegar aqui com saúde e por iluminar meus caminhos.

A minha família, por compreenderem minha ausência e sempre me incentivarem. Em especial aos meus pais, Sônia e Odilon, que são meu apoio, e aos meus irmãos, Ramon e Tatiane, por acreditarem tanto em mim.

Aos meus professores, desde sempre, por assumirem o nobre compromisso de compartilhar seus conhecimentos, em especial ao professor César, pelo acolhimento e orientação neste projeto e por ter sido, ainda na graduação, um dos motivadores para meu interesse na área de saneamento.

À Bruna, pela contribuição nas atividades de laboratório, pelas orientações e por toda ajuda sem a qual esse trabalho não seria possível. Sua contribuição foi essencial.

Ao Ricardo e ao Thiago, por substancial participação no projeto, e ao Alcino e Andrés, pela participação nos trabalhos em campo.

À Ana Paula, minha psicóloga, pelos conselhos, pessoais e acadêmicos, e por me ajudar a manter a saúde mental.

Aos meus colegas de trabalho, que compartilham comigo o dia-a-dia, em especial minha coordenadora Laura, que me apoiou na decisão de fazer o mestrado e compreendeu os pedidos de folga, férias e alterações de horários necessários para que eu conseguisse concluí-lo.

À Projelet, empresa em que trabalho, por incentivar o desenvolvimento pessoal de seus colaboradores.

Ao suporte financeiro, fundamental para o projeto, das instituições Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETES Sustentáveis), Centro de Desenvolvimento de Tecnologia Nuclear (CDTN), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

RESUMO

O esgoto contém diversos microrganismos patogênicos e, durante as diversas etapas de tratamento, pode ocorrer a formação de aerossóis, constituindo uma fonte potencial de disseminação desses patógenos. Sendo assim, uma análise dos patógenos presentes nos aerossóis gerados em Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) se torna necessária para avaliar o risco que representam aos trabalhadores desses ambientes. A metodologia para amostragem de aerossóis em ETEs ainda não está padronizada e neste trabalho, de caráter experimental, foram utilizados diferentes equipamentos para amostragem. Amostras de aerossóis foram coletadas por filtração, durante aproximadamente 5 dias, em diferentes locais de duas ETEs de grande porte: uma com tratamento via UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) e filtro biológico percolador e outra com tratamento via sistema de lodos ativados convencional. Analisou-se a presença de SARS-CoV-2 nos aerossóis por RT-qPCR, e a presença de adenovírus, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* nos aerossóis e no esgoto por qPCR. SARS-CoV-2 não foi detectado em nenhuma amostra de aerossol. Todos os outros patógenos analisados foram detectados em pelo menos uma amostra de aerossóis: adenovírus (11 de 69), *Haemophilus influenzae* (1 de 31), *Pseudomonas aeruginosa* (10 de 69) e *Staphylococcus aureus* (6 de 69). Destaca-se que *H. influenzae*, pela primeira vez, até onde se sabe, foi quantificada em aerossóis e em lodo de retorno. Uma avaliação de risco para infecção por adenovírus por inalação foi realizada baseada na metodologia de Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico (AQRM) e concluiu-se que o risco potencial é maior que o proposto como tolerável na literatura existente. Apesar de não haver informações sobre a viabilidade dos organismos patogênicos detectados, deve-se reforçar a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) para aumentar a segurança dos trabalhadores. Este trabalho foi o primeiro, até onde se sabe, a analisar microrganismos patogênicos nos aerossóis de ETE no Brasil e apresenta resultados que podem auxiliar o desenvolvimento de trabalhos futuros.

Palavras-chave: Bioaerossol. Adenovírus. SARS-CoV-2. AQRM. Patógenos. Trabalhadores de ETE. *Haemophilus influenzae*. *Pseudomonas aeruginosa*. *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Wastewater contains several pathogenic microorganisms and, during the different treatment stages, the formation of aerosols may occur, constituting a potential source of dissemination of these pathogens. Therefore, an analysis of the pathogens in aerosols generated at Wastewater Treatment Plants (WWTP) becomes necessary to assess the risk they represent to workers in these environments. The methodology for aerosol sampling at WWTPs is not yet standardized and, in this experimental work, different sampling equipment was used. Aerosol samples were collected through filtration, for approximately 5 days, at two large WWTPs: the first WWTP has wastewater treatment by UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) and trickling filter and the other, by conventional activated sludge system. The presence of SARS-CoV-2 in aerosols was analyzed by RT-qPCR and the concentration of four other pathogenic microorganisms in aerosols was analyzed by qPCR: adenovirus, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. SARS-CoV-2 was not detected in any aerosol samples. All other pathogens analyzed were detected in at least one aerosol sample: adenovirus (11 out of 69), *Haemophilus influenzae* (1 out of 31), *Pseudomonas aeruginosa* (10 out of 69) and *Staphylococcus aureus* (6 out of 69). It is noteworthy that *H. influenzae*, for the first time, to the best of our knowledge, was quantified in aerosols and return sludge. A risk assessment for adenovirus infection by inhalation was performed based on Quantitative Microbial Risk Assessment (QMRA) methodology and it was concluded that the potential risk is greater than proposed as tolerable in the existing literature. Although there is no information on the viability of the pathogenic organisms detected, the use of personal protective equipment (PPE) should be reinforced to increase the safety of workers. This work was the first, as far as is known, to analyze pathogenic microorganisms in WWTP aerosols in Brazil and presents results that can help the development of future work.

Keywords: Bioaerosol. Adenovirus. SARS-CoV-2. QMRA. Pathogens. WWTP workers. *Haemophilus influenzae*. *Pseudomonas aeruginosa*. *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Possíveis resultados da exposição a patógenos.....	44
Figura 4.1 – Diagrama esquemático do posicionamento dos amostradores na ETE A.....	55
Figura 4.2 – Diagrama esquemático do posicionamento dos amostradores na ETE B.....	56
Figura 4.3 – Amostrador de grande volume a jusante da ETE B.....	57
Figura 4.4 – Amostrador de pequeno volume no canal por onde passa o afluyente dos decantadores primários.....	58
Figura 4.5 – Amostrador de pequeno volume na entrada do lodo de retorno no tanque de lodos ativados.....	58
Figura 4.6 – Amostrador de médio volume no reator de lodos ativados.....	59
Figura 4.7 – Amostrador de médio volume na elevatória de lodo de retorno.....	59
Figura 4.8 – Amostrador de grande volume a montante da ETE B.....	60
Figura 4.9 – Bomba de amostragem digital Accura-3 (CRIFFER®) conectada a cassete.....	61
Figura 4.10 – Cassete com membrana de gelatina.....	61
Figura 4.11 – (A) Parte inferior do suporte de filtro do amostrador N-FRM com microfiltro de fibra de vidro Ø47mm e (B) suporte com a parte superior e membrana de gelatina Ø37mm posicionados.....	62
Figura 4.12 – Eluição dos filtros de quartzo: (A) filtro recortado em tubo Falcon com solução PBS; (B) aparato para filtração; (C) membrana após filtração do sobrenadante; (D) tubo Eppendorf com membrana.....	68
Figura 4.13 – Membranas resultantes da eluição dos filtros de quartzo na primeira etapa da extração do material genético.....	69
Figura 4.14 – NanoDrop™ utilizado para quantificar o material genético extraído.....	69
Figura 5.1 – Furo em membrana de gelatina no amostrador posicionado no canal de afluyente dos decantadores na ETE B.....	80
Figura 5.2 – Diferença de coloração das membranas de gelatina de amostradores posicionados no canal de afluyente dos decantadores (1) e na entrada do lodo de retorno (2).....	80
Figura 5.3 – Box-whisker da concentração de adenovírus no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B.....	90
Figura 5.4 – Box-whisker da concentração de adenovírus no lodo de retorno na ETE B.....	90

Figura 5.5 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B	91
Figura 5.6 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S no lodo de retorno na ETE B...	92
Figura 5.7 – Box-whisker da concentração de <i>H. influenzae</i> no lodo de retorno na ETE B...	93
Figura 5.8 – Box-whisker da concentração de <i>P. aeruginosa</i> no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B	94
Figura 5.9 – Box-whisker da concentração de <i>P. aeruginosa</i> no lodo de retorno na ETE B..	95
Figura 5.10 – Box-whisker da concentração de <i>S. aureus</i> no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B.....	96
Figura 5.11 – Box-whisker da concentração de <i>S. aureus</i> no lodo de retorno na ETE B	96
Figura 5.12 – Fração de <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. aureus</i> em relação a bactérias 16S no esgoto bruto da ETE B	97
Figura 5.13 – Fração de <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. aureus</i> em relação a bactérias 16S no esgoto do reator de lodos ativados da ETE B	98
Figura 5.14 – Fração de <i>H. influenzae</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. aureus</i> em relação a bactérias 16S no lodo de retorno da ETE B	98
Figura 5.15 – Detecção de adenovírus em aerossóis na ETE A por dia e por local.....	102
Figura 5.16 – Detecção de adenovírus em aerossóis na ETE B por dia e por local.....	103
Figura 5.17 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S nos aerossóis amostrados em cada local da ETE e a montante da ETE.....	106
Figura 5.18 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S nos aerossóis a montante da ETE (n = 3) e na ETE (n = 28)	109
Figura 5.19 – Detecção de <i>P. aeruginosa</i> em aerossóis na ETE A por dia e por local.....	111
Figura 5.20 – Detecção de <i>S. aureus</i> em aerossóis na ETE B por dia e por local.....	112
Figura 5.21 – Relação entre detecções de adenovírus no ar, no esgoto e no lodo por dia na ETE B	114
Figura 5.22 – Relação entre detecções de <i>H. influenzae</i> no ar e no lodo por dia na ETE B .	115
Figura 5.23 – Relação entre detecções de <i>P. aeruginosa</i> no ar, no esgoto e no lodo por dia na ETE B	115
Figura 5.24 – Relação entre detecções de <i>S. aureus</i> no ar, no esgoto e no lodo por dia na ETE B	116

Figura 5.25 – Probabilidade anual de infecção a adenovírus por inalação nos dois cenários considerados para a ETE A	121
Figura 5.26 – Probabilidade anual de infecção a adenovírus por inalação nos três cenários considerados para a ETE B.....	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Resumo sobre microrganismos analisados	27
Tabela 3.2 – Concentração total de bactérias totais (UFC/m ³) em aerossóis formados em diferentes processos de tratamento de esgoto	33
Tabela 3.3 – Métodos de amostragem e análise de bioaerossóis em ETEs	40
Tabela 3.4 – Resumo de utilização de AQRM para avaliação de aerossóis de ETEs	48
Tabela 4.1 – Locais de amostragem na ETE A	54
Tabela 4.2 – Locais de amostragem na ETE B	57
Tabela 4.3 – Materiais de amostragem usados em cada local na ETE A	63
Tabela 4.4 – Materiais de amostragem usados em cada local na ETE B	64
Tabela 4.5 – Microrganismos analisados nas amostras de cada ETE	70
Tabela 4.6 – Primers usados na análise por qPCR	71
Tabela 4.7 – Condições de ciclagem do qPCR	72
Tabela 4.8 – Testes estatísticos usados para comparar valores centrais das amostras	73
Tabela 4.9 – Taxa de inalação de adultos (homens e mulheres) para exposição de longo prazo	76
Tabela 5.1 – Volumes amostrados na ETE A, em L	81
Tabela 5.2 – Volumes amostrados na ETE B, em L	82
Tabela 5.3 – Comparação entre os amostradores utilizados	84
Tabela 5.4 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos do afluente do UASB coletado na ETE A	87
Tabela 5.5 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos do afluente do Filtro Biológico Percolador coletado na ETE A	87
Tabela 5.6 – Parâmetros físico-químicos do esgoto bruto coletado na ETE B	88
Tabela 5.7 – Parâmetros físico-químicos do esgoto do reator de lodos ativados coletado na ETE B	88
Tabela 5.8 – Parâmetros físico-químicos do lodo de retorno coletado na ETE B	88
Tabela 5.9 – Concentração de adenovírus em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia ..	89
Tabela 5.10 – Concentração de bactérias 16S em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia	91

Tabela 5.11 – Concentração de <i>H. influenzae</i> em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia	93
Tabela 5.12 – Concentração de <i>P. aeruginosa</i> em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia	94
Tabela 5.13 – Concentração de <i>S. aureus</i> em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia...	96
Tabela 5.14 – Concentrações de adenovírus nos aerossóis amostrados por dia na ETE A (CG/L)	101
Tabela 5.15 – Concentrações de adenovírus nos aerossóis amostrados por dia na ETE B (CG/L)	102
Tabela 5.16 – Concentrações de bactérias 16S nos aerossóis amostrados por dia na ETE B (CG/L)	105
Tabela 5.17 – Teste de Dunn para comparação das concentrações de bactérias 16S nos aerossóis de diferentes locais na ETE B	107
Tabela 5.18 – Concentrações de <i>P. aeruginosa</i> nos aerossóis amostrados por dia na ETE A (CG/L)	110
Tabela 5.19 – Concentrações de <i>S. aureus</i> nos aerossóis amostrados por dia na ETE B (CG/L)	112
Tabela 5.20 – Parâmetros de exposição considerados por cenário para ETE A.....	119
Tabela 5.21 – Parâmetros de exposição considerados por cenário para ETE B.....	120
Tabela 5.22 – Probabilidade anual de infecção para os dois cenários da ETE A e para os dois modelos de dose-resposta	121
Tabela 5.23 – Probabilidade anual de infecção para os três cenários da ETE B e para os dois modelos de dose-resposta	123
Tabela 5.24 – Resultados da análise de correlação de Spearman entre $P_{inf,anual}$ e parâmetros não-constantess	124

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGV – Amostrador de Grande Volume

AMV – Amostrador de Médio Volume

APV – Amostrador de Pequeno Volume

AQRM – Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico

CG – Cópias Genômicas

COVID-19 – Coronavirus Disease 2019

CT – Cycle Threshold

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

FBP – Filtro Biológico Percolador

ICB – Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

NMP – Número Mais Provável

P_{inf} – Probabilidade de infecção

P_{ill} – Probabilidade de doença

PCR – Reação em cadeia de polimerase

pppa – por pessoa por ano

PTFE – Politetrafluoroetileno

SSF – Sólidos Suspensos Fixos

SST – Sólidos Suspensos Totais

SSV – Sólidos Suspensos Voláteis

ST – Sólidos Totais

STF – Sólidos Totais Fixos

STV – Sólidos Totais Voláteis

TCID₅₀ – Tissue Culture Infectious Dose

UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFP – Unidade Formadora de Placa

US EPA – United States Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

WHO – World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1	MICROORGANISMOS PATOGÊNICOS NO ESGOTO	20
3.1.1	<i>SARS-CoV-2</i>	21
3.1.2	<i>Adenovirus</i>	22
3.1.3	<i>Haemophilus influenzae</i>	23
3.1.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
3.1.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	24
3.1.6	<i>Persistência de microrganismos patogênicos no esgoto</i>	25
3.1.7	<i>Síntese</i>	26
3.2	SAÚDE DO TRABALHADOR DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO	29
3.3	BIOAEROSSÓIS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO	30
3.3.1	<i>Aerolização</i>	31
3.3.2	<i>Fatores que influenciam a ocorrência de microrganismos em bioaerossóis</i>	34
3.3.3	<i>Microrganismos nos aerossóis</i>	35
3.4	METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE BIOAEROSSÓIS	36
3.4.1	<i>Amostragem</i>	36
3.4.2	<i>Análise Microbiológica</i>	38
3.5	AVALIAÇÃO DE RISCO	42
3.5.1	<i>AQRM</i>	42
3.5.2	<i>Cálculo de taxas médias diárias de exposição (ADD)</i>	51
4	MATERIAL E MÉTODOS	53
4.1	AMOSTRAGEM	53
4.1.1	<i>Estações de Tratamento de Esgoto</i>	53
4.1.2	<i>Campanhas de amostragem</i>	53
4.1.3	<i>Locais</i>	53
4.1.4	<i>Amostragem de aerossóis</i>	60

4.1.5	<i>Amostragem do esgoto (fase líquida)</i>	65
4.2	ANÁLISE DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA FASE LÍQUIDA	66
4.3	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	66
4.3.1	<i>Concentração das amostras de esgoto</i>	66
4.3.2	<i>Centrifugação das amostras de lodo de retorno</i>	66
4.3.3	<i>Eluição dos filtros de quartzo e PTFE</i>	67
4.3.4	<i>Extração</i>	68
4.3.5	<i>Análise microbiológica</i>	70
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	73
4.4.1	<i>Não detectados</i>	73
4.5	AVALIAÇÃO DE RISCO DE INFECÇÃO POR ADENOVÍRUS.....	74
4.5.1	<i>Identificação do perigo</i>	74
4.5.2	<i>Avaliação de dose-resposta</i>	74
4.5.3	<i>Avaliação da exposição</i>	75
4.5.4	<i>Caracterização do risco</i>	77
4.5.5	<i>Comparação com valores toleráveis</i>	77
4.5.6	<i>Análise de sensibilidade</i>	78
4.6	LIMITAÇÕES DO TRABALHO	78
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
5.1	AMOSTRAGEM DE AEROSSÓIS	79
5.1.1	<i>ETE A – Campanha 1</i>	79
5.1.2	<i>ETE B – Campanha 2</i>	79
5.1.3	<i>Lições aprendidas</i>	83
5.2	PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ESGOTO	86
5.2.1	<i>ETE A – Campanha 1</i>	86
5.2.2	<i>ETE B – Campanha 2</i>	86
5.3	DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS NO ESGOTO.....	89
5.3.1	<i>Adenovírus</i>	89
5.3.2	<i>Bactérias 16S</i>	90
5.3.3	<i>Haemophilus influenzae</i>	92
5.3.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	93
5.3.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	95

5.3.6	<i>Relação entre bactérias 16S, H. influenzae, P. aeruginosa e S. aureus na ETE B</i>	97
5.4	DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS EM AEROSSÓIS	98
5.4.1	<i>SARS-CoV-2</i>	99
5.4.2	<i>Adenovírus</i>	100
5.4.3	<i>Bactérias 16S</i>	103
5.4.4	<i>Haemophilus influenzae</i>	109
5.4.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	109
5.4.6	<i>Staphylococcus aureus</i>	111
5.4.7	<i>Relação entre bactérias 16S, H. influenzae, P. aeruginosa e S. aureus na ETE B</i>	113
5.4.8	<i>Relação de microrganismos nos aerossóis e no esgoto na ETE B</i>	113
5.4.9	<i>Considerações sobre a detecção de microrganismos nos aerossóis</i>	116
5.5	AValiação DE RISCO DE INFECÇÃO POR ADENOVÍRUS	119
5.5.1	<i>Cenários de exposição</i>	119
5.5.2	<i>Probabilidade de infecção</i>	120
5.5.3	<i>Análise de sensibilidade</i>	124
5.5.4	<i>Considerações sobre a avaliação de risco</i>	124
6	CONCLUSÕES	126
7	RECOMENDAÇÕES	128
	REFERÊNCIAS	129

1 INTRODUÇÃO

O esgoto contém diversos microrganismos patogênicos, como vírus, bactérias e fungos, que podem ser aerolizados e promover a disseminação de doenças. Rocha-Melogno et al. (2022) ressaltam que muitos estudos analisam a transmissão feco-oral de doenças entéricas, mas poucos o fazem para transmissão de patógenos entéricos pelo ar em ambientes com saneamento inadequado. Em seu estudo, os autores detectaram patógenos entéricos em aerossóis coletados nas proximidades de canais com esgoto a céu aberto.

Dentre os ambientes em que a geração de aerossóis a partir do esgoto pode ser uma questão importante, destacam-se as Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) onde, durante as diversas etapas de tratamento, pode ocorrer a formação de aerossóis e a consequente emissão de alguns desses microrganismos que podem afetar a saúde dos trabalhadores e de habitantes das proximidades (BURDSALL et al., 2021; LOU et al., 2021).

Fannin, Vana e Jakubowski (1985), por exemplo, analisaram bactérias e vírus presentes no ar em uma região nos Estados Unidos antes e depois do início das atividades de uma estação de tratamento de esgoto e perceberam aumento significativo em número e diversidade de bactérias identificadas. Em trabalhos mais recentes, diversos microrganismos já foram detectados nas proximidades de instalações de tratamento de esgoto, como adenovírus (CARDUCCI et al., 2016), rotavírus e norovírus (PASALARI et al., 2019), *Staphylococcus aureus* (CHEN et al., 2021), *Pseudomonas aeruginosa* (HAN et al., 2020a; YANG et al., 2019b), entre outros.

Além da presença confirmada de microrganismos patogênicos conhecidos há mais tempo, a recente pandemia de COVID-19, abreviação para Coronavirus Disease 2019, que se iniciou no final de 2019 (WHO, 2020a), e que, até o momento, infectou mais de 500 milhões de pessoas e causou mais de 6 milhões de óbitos (WHO, 2022), reforçou a necessidade de esforços na compreensão dos riscos associados a microrganismos patogênicos no esgoto, uma vez que o vírus causador da doença, o SARS-CoV-2, é excretado nas fezes e urina de indivíduos infectados e poderia ser aerolizado junto ao esgoto, onde já foi detectado (KITAJIMA et al., 2020; MEDEMA et al., 2020). É importante destacar que a transmissão do SARS-CoV-2 por rota feco-oral ou feco-nasal até então não foi comprovada (GUO et al., 2021; HELLER; MOTA; GRECO, 2020; NING et al., 2022).

Sendo assim, considerando que as ETEs podem produzir aerossóis contendo microrganismos patogênicos, deve-se avaliar o risco que representam à saúde dos trabalhadores, por meio de sua inalação ou do contato com a pele, para que possam ser realizadas ações corretivas e preventivas (YANG et al., 2019a).

Uma ferramenta usada para quantificar os riscos à saúde humana devido à exposição a microrganismos patogênicos é a Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico (AQRM). Alguns estudos já foram publicados abordando a utilização de AQRM para avaliar o risco de exposição a bioaerossóis de ETEs. Yan, Leng e Wu (2021) concluíram que, apesar de terem encontrado concentrações toleráveis de microrganismos nos aerossóis de acordo com padrões existentes, o risco de infecção resultante da avaliação de risco não era aceitável. Pasalari et al. (2019) avaliaram o risco de doença e infecção por norovírus e rotavírus presentes no ar em uma ETE no Irã e concluíram que o risco é maior que os limites propostos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) e pela Organização Mundial de Saúde (WHO). Chen et al. (2021) usaram AQRM para avaliar a exposição de trabalhadores de ETEs a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* considerando o uso ou ausência de equipamentos de proteção de individual (EPI) e concluíram que estes têm um papel significativo na proteção dos trabalhadores.

Para realizar a avaliação de risco que esses microrganismos podem representar, é necessário primeiro identificá-los e quantificá-los. Para isso, é necessário coletar tanto o ar quanto o esgoto. Para a amostragem dos aerossóis de esgoto, ainda não há metodologia padrão (SINGH et al., 2020), sendo essa uma das lacunas a serem preenchidas por estudos no assunto. Ainda não há consenso, também, sobre como os tipos de tratamento e fatores meteorológicos afetam a quantidade e comportamento dos bioaerossóis.

Dessa forma, este trabalho pretende analisar microrganismos patogênicos no ar em ETEs para avaliar o risco a que os trabalhadores de ETEs podem estar sujeitos e, assim, contribuir para o debate científico no assunto. Para esse fim, foram analisados SARS-CoV-2, adenovírus, bactérias 16S, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. A escolha dessas espécies de microrganismos foi feita considerando a importância emergente do SARS-CoV-2, a presença no esgoto, estabilidade e patogenicidade dos adenovírus (ALLARD; VANTARAKIS, 2019; MOMBA et al., 2019), e o fato de que *P. aeruginosa* e *S. aureus* são

bactérias oportunistas e, junto a *H. influenzae*, estão entre as bactérias patogênicas prioritárias listadas pela WHO devido à resistência a antibióticos, apesar de esta característica não ser abordada neste trabalho (WANG; YAO; ZHU, 2022; YANG et al., 2019b). Por último, analisou-se também um conjunto mais amplo de bactérias, através de amplificação do gene de RNA ribossômico 16S (rDNA) para avaliar a presença de bactérias em geral, e para comparar com as concentrações encontradas para as bactérias específicas analisadas.

Além de analisar os microrganismos mencionados acima nos aerossóis de ETEs, um dos objetivos deste trabalho é avaliar o risco que os adenovírus presentes nos aerossóis representam à saúde dos trabalhadores de ETEs, uma vez que um terço dos tipos conhecidos causam infecções sintomáticas em humanos e eles apresentam presença, estabilidade e persistência consideráveis nos esgotos (ALLARD; VANTARAKIS, 2019; MOMBA et al., 2019).

2 OBJETIVOS

2.1 *Objetivo geral*

Analisar a presença de SARS-CoV-2, adenovírus, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em bioaerossóis gerados em ETEs de grande porte e avaliar o risco que representam aos trabalhadores das ETEs.

2.2 *Objetivos específicos*

- i. Analisar quantitativamente microrganismos patogênicos no ar e no esgoto em diferentes fases de tratamento de duas ETEs, uma com tratamento via UASB e filtro biológico percolador e outra via lodos ativados.
- ii. Analisar a relação entre a concentração de microrganismos encontrados no esgoto e no ar.
- iii. Avaliar metodologias de amostragem de aerossóis em ETEs.
- iv. Estimar, com o auxílio de AQRM (Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico), o risco de infecção dos trabalhadores das ETEs por adenovírus devido à exposição aos aerossóis gerados nas ETEs.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 *Microrganismos Patogênicos no Esgoto*

O esgoto contém diversos microrganismos. Dentre eles, espécies que podem ser patogênicas aos seres humanos. Alguns grupos de bactérias patogênicas mais comuns no esgoto são *Salmonella* spp., *Escherichia* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Klebsiella* spp., *Leptospira* spp., *Vibrio cholerae*, *Aeromonas hydrophila*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium* spp. e *Pseudomonas* spp. (CHAHAL et al., 2016).

Os patógenos presentes no esgoto podem ter diversas origens. Algumas das bactérias mencionadas acima podem se originar no meio ambiente, como as bactérias *L. pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *A. hydrophila*, enquanto outras são liberadas no meio ambiente através de fezes, urina e outros fluidos corporais (CHAHAL et al., 2016).

A concentração de patógenos nas fezes pode ser muito alta, diminuindo após seu lançamento no ambiente mediante diluição, dispersão, inativação e morte dos microrganismos. Contudo, latrinas e esgoto bruto não tratado podem ter ainda uma grande concentração desses microrganismos (AW, 2018). Excrementos humanos e animais são a maior fonte de patógenos causadores de doenças transmitidas pela água e alguns desses microrganismos podem permanecer infecciosos por longos períodos de tempo após sua introdução no ambiente. Sendo assim, a excreção de patógenos tem papel importante na transmissão de doenças (AW, 2018).

Dentre os microrganismos patogênicos excretados, destaca-se a importância dos membros de 6 famílias de vírus: *Picornaviridae*, *Caliciviridae*, *Hepeviridae*, *Reoviridae*, *Astroviridae* e *Adenoviridae*. Eles são responsáveis por causar desde infecções assintomáticas a uma grande variabilidade de doenças, como gastroenterite, meningite, doenças respiratórias, conjuntivite, miocardite, paralisia e hepatite (RUSIÑOL; GIRONES, 2017). Ressalta-se ainda que a maioria das infecções virais de transmissão por água são causadas por vírus entéricos, ou seja, patógenos gastrointestinais que podem ser transmitidos por rota feco-oral (AW, 2018). Além de vírus entéricos, outros tipos de vírus também podem ser encontrados no esgoto, como os coronavírus, causadores das síndromes respiratórias agudas graves (SARS-CoV e SARS-CoV-2) (CHAHAL et al., 2016; MEDEMA et al., 2020).

Nas seções a seguir, serão apresentadas informações sobre os microrganismos analisados neste trabalho.

3.1.1 SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é o vírus causador da síndrome respiratória aguda grave associada à pandemia de COVID-19. Ele é um vírus envelopado, de RNA de fita simples, com diâmetro entre 60 e 140 nm, do gênero *Betacoronavirus* da família *Coronaviridae*. Os vírus dessa família podem causar doenças respiratórias, entéricas, hepáticas e neurológicas em diferentes espécies animais (CASCELLA et al., 2022). Coronavírus humanos causam sintomas respiratórios e gastrointestinais e, de acordo com Kitajima et al. (2020), estudos indicam que alguns desses coronavírus podem se replicar no trato gastrointestinal.

Tanto o RNA viral quanto SARS-CoV-2 viáveis são excretados pelo corpo humano via saliva, escarro e fezes. No esgoto, o RNA viral do SARS-CoV-2 já foi detectado (KITAJIMA et al., 2020; MEDEMA et al., 2020).

O conhecimento sobre as formas de transmissão de SARS-CoV-2 ainda está sendo construído. Até então, evidências mostram que o vírus se espalha entre pessoas com contato próximo e também em ambientes com muitas pessoas e sem ventilação adequada, através de gotículas espalhadas por tosse, espirros, canto, fala e respiração. Existem evidências limitadas da transmissão por contato com superfícies contaminadas (WHO, 2020b). Uma vez que o vírus foi detectado em fezes e esgoto levantou-se a hipótese de possível transmissão feco-oral e feco-nasal, que ainda não foram comprovadas mas que, se forem, reforçariam a necessidade urgente de provisão de água e saneamento adequados (HELLER; MOTA; GRECO, 2020).

As transmissões por rota feco-nasal e feco-oral são uma preocupação que já foi cogitada para a transmissão do SARS-CoV-1, devido a um surto em um conjunto habitacional em Hong Kong, em 2003. Sugere-se que sífoes secos permitiram a entrada de aerossóis de esgoto nos apartamentos e, assim, por inalação, ingestão e contato com as superfícies, os habitantes poderiam ser contaminados. Além dessa possibilidade, cogitou-se a hipótese de que roedores e baratas podem ter agidos como vetores de transmissão (WHO, 2003). Com base nessas hipóteses, Kang et al. (2020) analisaram um prédio e seus habitantes no início da pandemia de COVID-19 e chegaram a evidências de que é provável que algumas pessoas no prédio tenham

sido contaminadas por aerossóis fecais gerados durante a utilização do banheiro por habitantes de apartamento inferior e esses aerossóis provavelmente se movimentaram através das prumadas de esgoto e ventilação.

3.1.2 Adenovírus

Os adenovírus humanos são vírus de DNA pertencentes ao gênero *Mastadenovirus* da família *Adenoviridae* e consistem em, ao menos, 52 sorotipos classificados em 7 diferentes espécies (A-G) que afetam humanos. Dentre os tipos conhecidos, cerca de um terço está associado a doenças humanas, como gastroenterites, infecções respiratórias e oculares, cistite aguda hemorrágica e meningoencefalite (ALLARD; VANTARAKIS, 2019).

Os adenovírus podem ser transmitidos por meio de inalação, inoculação conjuntival direta, por rota feco-oral e por superfícies (ALLARD; VANTARAKIS, 2019).

Quando o adenovírus causa doença do trato respiratório superior, os sintomas são febre, coriza, tosse e dor de garganta, durando geralmente entre 3 e 5 dias. Infecções mais severas podem durar mais tempo e causar sintomas persistentes, como tosse. Crianças e indivíduos imunocomprometidos são os mais impactados por infecção por adenovírus, sendo que, adenovírus costumam causar infecções com risco de vida apenas em indivíduos com imunodeficiência (ALLARD; VANTARAKIS, 2019).

Tanto os adenovírus humanos entéricos quanto os respiratórios são encontrados no esgoto (ALLARD; VANTARAKIS, 2019). São vírus de estabilidade e persistência consistentes em esgoto humano, tendo sido, inclusive, sugeridos como indicadores fecais de contaminação viral. Sugere-se que a alta persistência deles durante os tratamentos de esgotos pode ser devido à alta estabilidade de seu genoma de DNA comparado a vírus de RNA (MOMBA et al., 2019).

De acordo com Momba et al. (2019), a literatura mostra que aproximadamente 10^5 - 10^9 CG/L e 10^2 - 10^5 CG/L de adenovírus humano têm sido detectados em esgoto bruto e tratado, respectivamente. O sorotipo mais comum de adenovírus humano detectado em esgotos e águas superficiais é o Ad41, que é o segundo maior causador de gastroenterite infantil no mundo (RAMES et al., 2016).

3.1.3 *Haemophilus influenzae*

A *Haemophilus influenzae* é uma bactéria cocobacilar gram-negativa, que pode encapsulada, com seis tipos conhecidos (a até f), e não-encapsulada (não tipável). Usualmente habita o nariz e garganta de seres humanos e não causa danos. Entretanto, ao se deslocar para outros locais pode causar infecção (CDC, 2022; OLIVER; MORO; BLAIN, 2021). Mégraud et al. (1988) identificaram *H. influenzae* e *H. parainfluenzae* no apêndice e fezes de crianças e sugeriram que o trato gastrointestinal pode ser uma reserva dessas bactérias e que a *H. influenzae* pode ter um papel na ocorrência de apendicite (MÉGRAUD et al., 1988).

A transmissão de *H. influenzae* ocorre principalmente através do ar ou pelo contato direto com materiais contaminados (LIS; GÓRNY, 2013). A *H. influenzae* pode causar infecções respiratórias, de corrente sanguínea e dérmicas, meningite, otite e artrite infecciosa. As doenças causadas por *H. influenzae* ocorrem majoritariamente em crianças de até 5 anos de idade, idosos após 65 anos e pessoas com condições médicas específicas (CDC, 2022; MÉGRAUD et al., 1988).

Palaniappan et al. (2020) estudaram a presença de *H. influenzae* em crianças de 2 a 4 anos em Kuala Lumpur, Malásia, e analisaram sua relação com diversas variáveis. Dentre estas, um parâmetro que reportaram ter associação significativa foi a presença de esgotamento sanitário planejado na residência, ou seja, instalações sanitárias residenciais que permitem o transporte do esgoto até estação de tratamento via redes subterrâneas. Contudo, reforçam que mais investigação nessa relação é necessária (PALANIAPPAN et al., 2020).

A quantificação desta bactéria no esgoto não foi encontrada na literatura, mas Jałowicki et al. (2022), com o uso de sequenciamento, analisaram a abundância relativa de diversas bactérias resistentes a antibióticos em esgoto e, dentre as analisadas, detectaram *H. influenzae*.

3.1.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria bacilar gram-negativa da ordem Pseudomonadales, que abrange organismos ubíquos no solo e em sistemas aquáticos. A *P. aeruginosa* não é um patógeno obrigatório, mas uma bactéria oportunista, ou seja, inicia infecções em indivíduos com sistema imune debilitado, e é uma causa frequente de infecções hospitalares. Além disso,

é naturalmente resistente a diversos antibióticos amplamente utilizados (FARVER; ZANDER, 2009; MADIGAN et al., 2016).

A *P. aeruginosa* está associada a infecções de ferimentos, pneumonia nosocomial, septicemia, e infecções cutâneas, respiratórias e do trato urinário. Ela geralmente entra no organismo através de rupturas nos tecidos devido a cortes, queimaduras e dispositivos terapêuticos, como cateteres (FARVER; ZANDER, 2009; MADIGAN et al., 2016).

No trato gastrointestinal, oito espécies de *Pseudomonas* pode ser detectado, sendo a *P. aeruginosa* a mais prevalente e frequentemente reportada como membro da microbiota fecal de seres humanos saudáveis (RAJILIĆ-STOJANOVIĆ; DE VOS, 2014).

Sendo, então, presente no ambiente, em fezes e em seres humanos, espera-se que esteja presente nos esgotos. Wheeler et al. (1980) conseguiram isolar *P. aeruginosa* de esgotos domésticos e hospitalares. Antes deles, outros estudos já haviam confirmado a presença de *P. aeruginosa* em fezes humanas e em efluentes domésticos (WHEATER et al., 1980). Slekovec et al. (2012) detectaram uma concentração média de $2,5 \times 10^5$ UFC/L de *P. aeruginosa* no afluente de uma ETE na França e, destacam, ainda, que a concentração da bactéria nos efluentes de hospitais foi cerca de 25 vezes maior que a concentração do esgoto urbano, com médias de $4,46 \times 10^6$ UFC/L e $1,8 \times 10^5$ UFC/L, respectivamente (SLEKOVEC et al., 2012). López et al. (2019), detectaram concentração de espécies de *Pseudomonas* nos afluentes de ETEs na Espanha nas ordens de 10^7 e 10^8 UFC/L.

3.1.5 *Staphylococcus aureus*

Os estafilococos são cocos gram-positivos, não esporulados, com diâmetro aproximado de 0,5 a 1,5 μm . A *Staphylococcus aureus*, uma espécie patogênica de estafilococo, pode ser encontrada no ambiente de circulação do ser humano e em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestino e pele (MADIGAN et al., 2016; SANTOS et al., 2007).

A *S. aureus* pode causar infecções respiratórias, em ferimentos e na pele. A maioria das infecções por estafilococos é resultado da transferência de estafilococos presentes na microbiota normal de indivíduos assintomáticos a indivíduos suscetíveis. Além dessas infecções, as toxinas

produzidas por *S. aureus* estão associadas a intoxicação alimentar, síndrome da pele escaldada e síndrome do choque tóxico (MADIGAN et al., 2016; SANTOS et al., 2007).

Considerando a presença de *S. aureus* no ambiente, em diversas partes do corpo e em fezes humanas (CLAASSEN-WEITZ et al., 2016), espera-se que esteja presente nos esgotos. López et al. (2019), detectaram concentração de *S. aureus* nos afluentes de ETEs na Espanha nas ordens de 10^4 e 10^6 UFC/L. Kozajda e Ježak (2020), encontraram *S. aureus* no esgoto bruto de 16 ETEs na Polônia variando nas ordens de 10^3 a 10^6 UFC/L.

3.1.6 Persistência de microrganismos patogênicos no esgoto

Quanto maior a persistência de um microrganismo patogênico em um ambiente, maior a possibilidade de que encontre um hospedeiro. Diversos fatores influenciam a sobrevivência de patógenos no meio ambiente, como temperatura, radiação solar, oxigênio dissolvido, disponibilidade de nutrientes, salinidade, presença de enzimas e predação. Além disso, a presença de partículas com superfície carregada pode aumentar sua persistência, uma vez que microrganismos têm uma carga eletrostática intrínseca que faz com que se juntem a essas partículas (AW, 2018).

Bactérias, como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Helicobacter pylori* e *Vibrio cholerae*, ainda têm a habilidade de entrarem em um estado viável mas não-cultivável que permitem que persistam em ambientes por longos períodos e mantenham sua patogenicidade sob condições desfavoráveis (AW, 2018; WHO, 2018).

Bactérias nativas são mais adaptadas aos ambiente do esgoto que bactérias entéricas, pois estas dependem de temperatura e pH adequados (YATES, 2017). Além disso, apesar da multiplicação de bactérias entéricas no ambiente ser possível, é rara (WHO, 2018).

A persistência de vírus está relaciona ao tempo que sua camada externa se mantém intacta sob condições adversas (WHO, 2018; YATES, 2017). Algumas características de vírus entéricos, como tamanho pequeno, estabilidade a uma grande variação de temperatura e pH, resistência a agentes químicos e tendência de adsorção a partículas e superfícies, os permitem sobreviver a processos de tratamento de esgoto (AW, 2018).

Os processos de tratamento de esgoto comumente usados no mundo tendem a ser muito eficientes na remoção de matéria orgânica e sólidos suspensos, mas menos eficientes na remoção de microrganismos patogênicos (MOMBA et al., 2019).

Espinosa et al. (2022) analisaram a remoção de microrganismos em um sistema de tratamento em escala piloto composto por UASB seguido de lagoas de alta taxa e encontraram remoção da ordem de 0,9, 1 e 2,94 \log_{10} para SARS-CoV-2, adenovírus e *E. coli*, respectivamente, e ressaltaram que tal sistema tem como foco a remoção de matéria e nutrientes e não patógenos. Além disso, ressaltaram que quase 60% do RNA de SARS-CoV-2 e mais que 70% do DNA de adenovírus efluentes estavam no lodo, indicando que esses vírus tem grande afinidade aos sólidos (ESPINOSA et al., 2022). Já Pourakbar et al. (2022), analisando a remoção de RNA de SARS-CoV-2 do lodo de um sistema por lodos ativados, sugerem que um alto tempo de retenção, a temperatura e os processos biológicos da digestão anaeróbia do lodo podem contribuir para a destruição do SARS-CoV-2 nesse material.

3.1.7 Síntese

Os microrganismos analisados neste trabalho são apresentados, junto a algumas características e justificativa para análise, na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Resumo sobre microrganismos analisados

Microrganismo	Patógeno obrigatório?	Doenças	Transmissão	Encontrado no esgoto?	Motivação para análise	Ref.
SARS-CoV-2	Sim	Síndrome respiratória aguda grave	Ainda está sendo estudada. Até o momento sabe-se da transmissão por gotículas e contato próximo entre pessoas.	Sim	Pandemia COVID-19	1
Adenovírus	Sim	Gastroenterites, infecções respiratórias e oculares, cistite aguda hemorrágica e meningoencefalite	Inalação, inoculação conjuntival direta, por rota feco-oral e por superfícies	Sim	Presença no esgoto, estabilidade e patogenicidade dos adenovírus	2
<i>H. influenzae</i>	Não	Infecções respiratórias, de corrente sanguínea e dérmicas, meningite, otite e artrite infecciosa	Ar ou contato direto com objetos contaminados	Sim	Não foram encontrados estudos de quantificação desta bactéria nos esgotos e está entre as bactérias patogênicas prioritárias listadas pela WHO devido à resistência a antibióticos.	3
<i>P. aeruginosa</i>	Não	Infecções de ferimentos, pneumonia nosocomial, septicemia, e infecções cutâneas, respiratórias e do trato urinário	Entra no organismo através de rupturas nos tecidos devido a cortes, queimaduras e dispositivos terapêuticos	Sim	Bactéria oportunista e está entre as bactérias patogênicas prioritárias listadas pela WHO devido à resistência a antibióticos.	4

Microrganismo	Patógeno obrigatório?	Doenças	Transmissão	Encontrado no esgoto?	Motivação para análise	Ref.
<i>S. aureus</i>	Não	Infecções respiratórias, em ferimentos e na pele	Transferência de estafilococos presentes na microbiota normal de indivíduos assintomáticos a indivíduos suscetíveis	Sim	Bactéria oportunista e está entre as bactérias patogênicas prioritárias listadas pela WHO devido à resistência a antibióticos.	⁵

¹ (KITAJIMA et al., 2020; MEDEMA et al., 2020; WHO, 2020b)

² (ALLARD; VANTARAKIS, 2019; MOMBA et al., 2019)

³ (CDC, 2022; JAŁOWIECKI et al., 2022; LIS; GÓRNY, 2013; WANG; YAO; ZHU, 2022)

⁴ (FARVER; ZANDER, 2009; LÓPEZ et al., 2019; MADIGAN et al., 2016; SLEKOVEC et al., 2012; WANG; YAO; ZHU, 2022)

⁵ (KOZAJDA; JEŽAK, 2020; LÓPEZ et al., 2019; MADIGAN et al., 2016; SANTOS et al., 2007; WANG; YAO; ZHU, 2022)

3.2 Saúde do Trabalhador de Estações de Tratamento de Esgoto

A relação entre exposição a bioaerossóis e efeitos adversos na saúde, como doenças infecciosas, alergias e cânceres, vem sendo mostrada em estudos desde a década de 1990 (WANG et al., 2015).

Colaboradores de ETEs estão expostos a uma grande variedade de agentes biológicos e substâncias tóxicas e, por isso, alguns estudos buscam avaliar os impactos do ambiente das ETEs na saúde destes profissionais, sobretudo os que trabalham com a operação. Alguns sintomas são reportados com maior frequência entre os operadores de ETEs, como problemas gastrointestinais e respiratórios, cansaço anormal e dor de cabeça. De acordo com Hooste et al. (2010), em 1976, Rylander et al. reportaram pela primeira vez a “síndrome do trabalhador de esgoto”, cujos sintomas são mal-estar, fraqueza, rinite aguda e febre (HELDAL et al., 2010; HOOSTE et al., 2010).

Khuder et al. (1998) utilizaram questionários para avaliar doenças e sintomas reportados por trabalhadores de ETEs (150 respostas). Para comparação, usaram o mesmo questionário em dois grupos de controle não relacionados a ETEs (54 respostas). Quanto às doenças reportadas, gastroenterite mostrou-se significativamente mais frequente entre trabalhadores das ETEs do que entre trabalhadores do grupo de controle. Não houve diferença significativa para as outras doenças avaliadas (bronquite, infecções respiratórias, pneumonia, poliomielite, salmonelose, leptospirose, shigelose, febre tifoide, hepatite A, giardíase e amebíase). Quanto aos sintomas, reportaram que dor abdominal e dor de cabeça foram estatisticamente mais frequentes entre os trabalhadores das ETEs do que entre os do grupo de controle. Por outro lado, os trabalhadores do grupo de controle reportaram dor de garganta com maior frequência que os trabalhadores das ETEs. Agrupando os sintomas, concluíram que apesar do fato de trabalhar na ETE não ter associação significativa com sintomas respiratórios, sistêmicos e de pele, existe uma associação significativa com o grupo de sintomas gastrointestinais (KHUDER et al., 1998).

Heldal et al. (2010) estudaram possíveis efeitos que a exposição a aerossóis poderia ter em trabalhadores de ETEs. Para isso, analisaram a função do pulmão por espirometria, proteína c-reativa no sangue para identificar inflamações sistêmicas, sintomas, com o auxílio de questionários, e aerossóis, utilizando amostradores pessoais com filtros. O total de

trabalhadores analisados foi de 44, sendo 19 trabalhadores de ETEs em que havia secagem do lodo e 25 de ETEs sem o processo de secagem do lodo. O grupo de controle foi composto por 36 trabalhadores de plantas de compostagem e ETEs, com funções predominantemente de escritório. Identificaram que os trabalhadores de ETEs apresentaram níveis maiores de proteína c-reativa que os do grupo de controle, indicando maior frequência de inflamação sistêmica. Também concluíram que os trabalhadores de ETEs que lidam com a secagem do lodo estavam expostos a mais poeira e endotoxinas e experimentaram mais sintomas sistêmicos e nas vias respiratórias que os outros trabalhadores de ETEs que não manejam o lodo (HELDAL et al., 2010).

3.3 *Bioaerossóis em Estações de Tratamento de Esgoto*

Bioaerossóis são partículas transportadas pelo ar que carregam material biológico, como microrganismos, seus fragmentos e subprodutos (BURDSALL et al., 2021). Tais partículas podem causar doenças infecciosas, reações tóxicas e alérgicas (GÓRNY, 2020; KOWALSKI et al., 2017).

De acordo com Lindsley et al. (2017), os microrganismos transportados pelo ar geralmente se encontram em agregados, gotículas e aglomerações que podem ser muito maiores que o tamanho dos microrganismos sozinhos.

O comportamento da partícula no ar e nas vias respiratórias é fortemente influenciado pelo diâmetro aerodinâmico das partículas, sendo que partículas maiores de bioaerossol tendem a se depositar no trato respiratório superior, ou seja, nas cavidades nasais e orais e nas vias respiratórias mais largas, enquanto as partículas menores viajam até os pulmões e as vias respiratórias menores (LINDSLEY et al., 2017). De acordo com Fennelly (2020), essas partículas menores têm diâmetro menor que 5 μm e podem se manter indefinidamente no ar, enquanto não são removidas por correntes de ar. Segundo Górnny (2020), em geral, as dimensões de partículas de bioaerossol com microrganismos variam entre 0,02 e 10 μm e segundo Kowalski et al. (2017), as partículas de aerossol que carregam bactérias em ETEs têm diâmetro aerodinâmico menor que 4,7 μm .

Ressalta-se que o comportamento das partículas nas vias respiratórias pode ser determinante para a ação dos microrganismos no corpo. Por exemplo, *Mycobacterium*, *Bacillus* e *Aspergillus* apresentam maior tendência de causar infecção pulmonária se atingirem as vias aéreas mais profundas (LINDSLEY et al., 2017).

3.3.1 Aerolização

A aerolização de microrganismos em ETEs pode ocorrer devido ao rompimento de bolhas, movimentação mecânica e turbulência da água (LOU et al., 2021). Os bioaerossóis formados podem conter bactérias, fungos e vírus além de íons como Cl^- , NH_4^+ e Ca^{2+} e substâncias carcinogênicas como As, Cd e Co (LOU et al., 2021).

Burdsall et al. (2021) mencionaram que diversos estudos mostram que o rompimento de bolhas aerolizam os microrganismos presentes na interface ar-água. Han et al. (2019), Niazi et al. (2015) e Yang et al. (2020) identificaram o tanque de aeração como responsável pela maior emissão de bactérias nos aerossóis das ETEs analisadas. Yang et al. (2019c) concluíram que os locais responsáveis por maior emissão de bactérias e metaloides nas ETEs analisadas por eles foram as unidades de aeração e o ambiente de secagem do lodo.

A forma de aeração utilizada pode influenciar a quantidade de aerossol gerado. A aeração mecânica é realizada por meio de criação de grande turbulência na superfície do líquido enquanto a aeração por ar difuso consiste na introdução de ar no meio líquido por difusores submersos (VON SPERLING; CHERNICHARO, 2005). Yan, Leng e Wu (2021) analisaram as concentrações de *Staphylococcus aureus* e bactérias gram-negativas nos aerossóis gerados em tanques com aeração mecânica e por ar difuso e concluíram que as concentrações dos microrganismos foram maiores nos aerossóis dos tanques com aeração mecânica. Han et al. (2020a) também concluíram que a aeração mecânica contribui mais para a concentração de microrganismos no ar que a aeração por ar difuso. Além disso, analisando a similaridade dos microrganismos presentes nos aerossóis e os presentes no esgoto, concluíram que os gerados na aeração mecânica têm maior similaridade com os do esgoto do que os gerados na aeração por ar difuso. Pourakbar et al. (2022) detectaram SARS-CoV-2 nos aerossóis próximos de um tanque com aeração mecânica de superfície, mas não detectaram nos aerossóis próximos a um tanque com aeração por ar difuso.

Szulc et al. (2021) analisaram o ar em diferentes etapas de tratamento de uma ETE (decantação primária, entrada do reator de lodos ativados, aeração, adensamento do lodo, armazenamento de material gradeado e deposição da areia resultante do desarenador) e encontraram concentração de bactérias variando entre $3,05 \times 10^2$ e $3,71 \times 10^3$ UFC/m³ nos aerossóis coletados na ETE. Contudo, encontraram nos aerossóis coletados externos à ETE concentração de $2,15 \times 10^2$ UFC/m³. Concluíram, então, que a única instalação com concentração total de bactérias estatisticamente diferente do ar fora da ETE foi o adensamento do lodo, com $3,71 \times 10^3$ UFC/m³.

Além da aerolização que ocorre devido aos métodos de aeração do esgoto, de acordo com Lou et al. (2021), emissões de bioaerossóis não desprezíveis foram detectadas em etapas do tratamento que não são sujeitas a aeração, como no gradeamento grosso, no tanque de decantação primário e na secagem do lodo, como mostrado na Tabela 3.2, que apresenta a concentração de bactérias totais cultiváveis em aerossóis coletados em diferentes processos do tratamento de esgotos.

Outro ponto importante para as considerações dos resultados é que unidades de tratamento em ambientes fechados podem apresentar uma concentração maior de microrganismos que as unidades em áreas abertas devido a menor dispersão dos aerossóis gerados. Sendo assim, uma maior concentração de aerossóis não necessariamente equivale a uma maior geração de aerossóis.

Tabela 3.2 – Concentração total de bactérias totais (UFC/m³) em aerossóis formados em diferentes processos de tratamento de esgoto

Ref.	Metodologia ¹	Estação do ano	BG ²	Gradeamento	Dec. Primário ³	Tanque Anaeróbio	Tanque Aeróbio	Dec. Secundário ³	Tratamento do Lodo ⁴
(FATHI et al., 2017)	Ágar triptona de soja com cicloheximida, 37°C		1,1 x 10 ²	7,5 x 10 ²			1,4 x 10 ³	2,0 x 10 ¹	9,4 x 10 ²
(HAN et al., 2019)	Ágar nutriente, 36°C	Primavera	5,6 x 10 ³		1,6 x 10 ³	1,1 x 10 ³	5,1 x 10 ³	3,0 x 10 ³	
		Verão	5,6 x 10 ³		1,5 x 10 ³	5,4 x 10 ²	1,0 x 10 ⁴	2,3 x 10 ³	
		Outono	7,0 x 10 ³		2,3 x 10 ³	2,2 x 10 ³	7,4 x 10 ³	6,1 x 10 ³	
		Inverno	1,9 x 10 ²		6,1 x 10 ²	1,5 x 10 ³	1,2 x 10 ³	4,7 x 10 ²	
(YANG et al., 2019a)	Ágar nutriente, 30°C	Inverno		5,1 x 10 ²	7,8 x 10 ²	1,9 x 10 ³	9,2 x 10 ¹	8,1 x 10 ¹	5,8 x 10 ¹
		Primavera		9,5 x 10 ²	2,2 x 10 ³	1,0 x 10 ³	9,9 x 10 ²	6,6 x 10 ¹	1,5 x 10 ²
		Verão		2,1 x 10 ³	2,1 x 10 ³	4,9 x 10 ³	1,1 x 10 ³	6,0 x 10 ¹	7,4 x 10 ¹
(YANG et al., 2020)	Ágar nutriente, 37°C		1,0 x 10 ³	1,2 x 10 ³			2,0 x 10 ³		2,2 x 10 ³
(SZULC et al., 2021)	Ágar triptona de soja com nistatina (0,2%), 30°C		2,2 x 10 ²		7,8 x 10 ²		3,1 x 10 ²		3,7 x 10 ³

¹ Cultura por 48 horas nos meios e temperaturas descritos nas linhas. | ² Background (controle) – amostragem a montante da ETE considerando o sentido do vento. | ³ Dec. = Decantador | ⁴ Secagem do lodo ou adensamento do lodo.

3.3.2 Fatores que influenciam a ocorrência de microrganismos em bioaerossóis

Diversos fatores influenciam a presença e quantidade de microrganismos em bioaerossóis. Destacam-se os processos de tratamento, no caso de bioaerossóis formados em ETEs, e as condições meteorológicas, como temperatura, radiação solar, vento e umidade relativa (GÓRNY, 2020; HAN et al., 2020b).

A temperatura e umidade ambiente podem afetar o tamanho das partículas de aerossóis, a viabilidade dos microrganismos e a carga eletrostática na superfície. A viabilidade de um microrganismo se refere à sua capacidade de reproduzir, crescer e, no caso de bactérias, formar colônias. No caso de vírus, por não serem metabolicamente ativos, são considerados viáveis se são capazes de se reproduzir em um hospedeiro celular adequado (LINDSLEY et al., 2017). A sobrevivência de vírus e bactérias nas partículas de aerossóis diminui com o aumento da temperatura, que é um dos fatores mais significantes, de acordo com Górnny (2020), afetando o metabolismo e a reprodução microbiana.

Quanto à umidade relativa do ar, quando aerolizados, vírus não-envelopados, como rinovírus e poliovírus, geralmente se tornam instáveis em umidade relativa abaixo de 70% devido à desnaturação das estruturas de superfície do vírus, enquanto vírus envelopados podem se tornar menos estáveis com umidade relativa maior que 70%, sendo que a umidade relativa ótima para preservação do vírus influenza é abaixo de 30%, e do coronavírus humano 229E é entre 30 e 70% (PAN; LEDNICKY; WU, 2019; VERREAULT; MOINEAU; DUCHAINE, 2008). Já quanto às bactérias, Lindsley et al. (2017) sugerem que a relação entre sobrevivência e umidade é mais complexa. De acordo com Han et al. (2020b), estudos sugerem que os materiais nos aerossóis absorvem água em ambientes úmidos e isso protege os microrganismos de inativação por radiação ultravioleta.

Fungos e esporos geralmente resistem melhor aos estresses ambientais se comparados a bactérias vegetativas e vírus. Apesar de temperaturas mais quentes e ambiente úmido favorecerem o crescimento de fungos, não está claro como a temperatura e a umidade afetam a viabilidade de fungos e esporos transportados pelo ar (LINDSLEY et al., 2017).

O vento, outro fator importante, da mesma forma que pode contribuir para a aerolização dos microrganismos, pode diluir a concentração das partículas de bioaerossóis (HAN et al., 2020b; SINGH et al., 2020).

Quanto às estações do ano, de acordo com Singh et al. (2020), enquanto a maioria dos estudos analisando bactérias e fungos em aerossóis de ETEs reportam um maior número de microrganismos no verão, os estudos envolvendo vírus, como o de Pasalari et al. (2019), destacam uma maior concentração de vírus em aerossóis no inverno. Entretanto, Singh et al. (2020) sugerem que esses resultados poderiam ser causados tanto por uma melhor adaptação dos vírus às condições de inverno quanto por maior quantidade de casos de infecções virais no período, impossibilitando o estabelecimento de uma correlação específica.

A composição do esgoto e, por consequência, dos aerossóis, também influencia a composição microbiana dos bioaerossóis. A quantidade de particulados suspensos está diretamente relacionada à presença de microrganismos em bioaerossóis, uma vez que estes geralmente se aderem a material particulado. Além disso, a interação entre diferentes microrganismos pode afetar a composição dos bioaerossóis (HAN et al., 2020b). O trabalho de Han et al. (2020b) ainda indica que existe uma relação entre a composição química dos bioaerossóis e a presença e sobrevivência de microrganismos neles, sugerindo que tais relações possam ser usadas no controle de patógenos em aerossóis de ETEs.

Além dos fatores externos, Han et al. (2020b) sugerem que os microrganismos têm diferentes potenciais de aerolização e, portanto, pode haver diferenças significativas entre os microrganismos presentes no esgoto e nos bioaerossóis emitidos a partir dele.

3.3.3 Microrganismos nos aerossóis

Apesar dos vários fatores de estresse que as partículas microbianas podem sofrer quando transportadas pelo ar, elas conseguem sobreviver durante mais tempo que organismos maiores (GÓRNY, 2020).

Uma grande variedade de microrganismos já foi identificada em bioaerossóis em ETEs. Alguns gêneros com bactérias potencialmente patógenas identificados nos trabalhos de Han et al. (2020b), Yang et al. (2019a) e Yang et al. (2019b) são *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*,

Arcobacter, *Bacillus*, *Bacteroides*, *Chryseobacterium*, *Dermatophilus*, *Enterobacter*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Stenotrophomonas*. Singh et al. (2020) indicam ainda que há uma predominância de bactérias gram-negativas nos bioaerossóis gerados em ETEs, o que acentua a preocupação, uma vez que elas têm a habilidade de liberar endotoxinas que podem ter impactos na saúde dos indivíduos que as inalam.

Além de bactérias e fungos, outro grupo de microrganismos que precisa ser analisado são os vírus. De acordo com Singh et al. (2020), vírus entéricos, como o norovírus e o rotavírus, são abundantes no esgoto e sua completa remoção via métodos de tratamento convencionais ainda não é possível.

Masclaux et al. (2014) analisaram a presença de adenovírus, norovírus e vírus causador de Hepatite E nos aerossóis gerados em 31 ETEs na Suíça, durante 2 anos, no verão e no inverno, e detectaram adenovírus F em 84% das amostras, adenovírus E em 4,9%, norovírus em 2,4% e vírus da hepatite E em nenhuma amostra de aerossóis, apesar de ter sido detectado, mas não quantificado, em 50% das amostras de esgoto.

Pasalari et al. (2019) detectaram a presença de rotavírus e norovírus nos aerossóis emitidos em uma ETE em Tehran, no Irã. Seus resultados indicam que a quantidade de norovírus é maior que a de rotavírus e que a concentração de ambos os vírus foi maior no inverno.

Gholipour et al. (2021) detectaram SARS-CoV-2 em 40% das amostras de ar coletadas em uma ETE no Irã. A concentração de vírus encontrada no ar foi de 5 a 188 CG/L. Sobre o SARS-CoV-2, é importante reforçar que sua viabilidade em aerossóis ainda está sendo estudada, mas que Van Doremalen et al. (2020), sob circunstâncias experimentais, confirmaram que o vírus se mantém viável e infeccioso em aerossóis por horas.

3.4 Metodologia para Análise de Bioaerossóis

3.4.1 Amostragem

A amostragem de bioaerossóis envolve a coleta das partículas do ar em meio sólido ou líquido. Segundo King et al. (2020), a coleta de bioaerossóis é feita, geralmente, com o uso de impactadores, impingers ou por filtração.

Nos impactadores, o ar passa pelo amostrador em alta velocidade e é forçado a mudar de direção. Com isso as partículas com maior inércia colidem com a superfície de coleta (KING et al., 2020; SINGH et al., 2020). De acordo com King et al. (2020), os impactadores não são muito aplicáveis em ambientes com alta concentração de bioaerossóis pois podem ficar sobrecarregados.

Os amostradores impinger tem funcionamento similar aos impactadores, mas ao invés de meio sólido, é usado um meio líquido para a coleta (SINGH et al., 2020). São os mais adequados para amostragem de vírus, mantendo sua integridade e viabilidade por meio de coleta em meio líquido, entretanto, devido à limitada vazão, pode ser ineficiente para coleta de vírus em ambientes com baixa concentração (RAHMANI et al., 2020).

Filtração é um método muito usado para a amostragem de bioaerossóis devido à simplicidade e ao baixo custo (LINDSLEY et al., 2017; SINGH et al., 2020). Nesse tipo de amostragem o ar passa através de uma membrana onde os microrganismos se depositam. Uma desvantagem do uso de filtração para a coleta de bioaerossóis é o risco de desidratação dos aerossóis, que pode influenciar os resultados de análises que necessitam de cultura ou visam a quantificação de microrganismos viáveis. Contudo, métodos de análise baseados em biologia molecular, como PCR, conseguem detectar microrganismos que tenha sido inativados durante a filtração (RAHMANI et al., 2020).

A maioria dos filtros usados para amostragem de aerossóis podem ser classificados como fibrosos (fibra de vidro), de membrana (ésteres de celulose, policloreto de vinila (PVC), politetrafluoroetileno (PTFE)) ou de poros capilares (policarbonato (PC)) (LINDSLEY et al., 2017). A escolha do filtro depende do contaminante de interesse e da metodologia de análise.

Burton, Grinshpun e Reponen (2007) analisaram a eficiência de coleta de filtros de diferentes materiais para amostragem de aerossóis contendo bactérias e vírus mediante quantificação de partículas antes e depois dos filtros. Compararam PTFE (tamanho de poro de 0,3, 0,5, 1 e 3 μm), gelatina (tamanho de poro de 3 μm) e PC (tamanho de poro de 1 e 3 μm) e concluíram que os filtros de PTFE e gelatina têm excelente eficiência de coleta. Por outro lado, os filtros de PC apresentaram eficiências menores que os outros dois para partículas virais menores que 100 nm (BURTON; GRINSHPUN; REPONEN, 2007).

O Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos (NIOSH – National Institute for Occupational Safety and Health) recomenda o uso de filtros de PTFE para ensaios imunológicos e análises baseadas em PCR uma vez que os microrganismos podem ser facilmente eluidos desse tipo de filtro e ele não interfere com os testes (LINDSLEY et al., 2017). De acordo com Patzelt et al. (2020), filtros de gelatina resultam em taxas de retenção de até 99,8% quando usados para coleta de vírus e as partículas coletadas podem ser recuperadas em pequenos volumes de água deionizada ou outras soluções apropriadas uma vez que a gelatina é solúvel em água (PATZELT et al., 2020). Além disso, Mallach et al. (2021) conseguiram manter a viabilidade de vírus por um período de amostragem de 16 horas em filtros de gelatina.

De acordo com Singh et al. (2020), ainda não existe uma metodologia padrão para a amostragem de bioaerossóis e o método escolhido depende das espécies que se quer identificar e de outras necessidades, como a metodologia de análise que será usada e se a viabilidade dos microrganismos será um fator importante na análise (LINDSLEY et al., 2017).

Se a metodologia de análise envolver a cultura dos microrganismos ou análise de viabilidade, a amostragem deve minimizar os danos causados aos microrganismos coletados. Para esses casos, pode-se usar impinger ou impactadores com placas de ágar como meio de coleta. Se a amostra não será cultivada ou se a viabilidade não será estudada, pode ser feita uma amostragem seca, por meio de filtração, ciclones ou impactadores (LINDSLEY et al., 2017), entretanto, ainda assim deve-se prezar pela manutenção da integridade do ácido nucleico (RAHMANI et al., 2020).

3.4.2 Análise Microbiológica

Quanto à análise microbiológica dos aerossóis, pode-se dividir as técnicas em métodos com cultivo e métodos sem cultivo. Os primeiros utilizam meios de cultura para cultivar os microrganismos para, então, ser feita a identificação e quantificação. Os outros utilizam métodos de biologia molecular como PCR, rtPCR, FISH, entre outros (SINGH et al., 2020).

Segundo Luhung et al. (2015), métodos com cultivo e microscópicos dominaram a pesquisa de bioaerossóis no início e ainda são usados devido a praticidade e especificidade. No entanto, métodos com cultivo se limitam a microrganismos cultiváveis, que, no caso de bactérias,

corresponderia a 1-2% de todas as espécies, podendo induzir à subestimação na concentração de microrganismos nos bioaerossóis (KING et al., 2020; LINDSLEY et al., 2017). Além disso, a viabilidade de microrganismos pode ser afetada de acordo com o método de amostragem, dificultando seu cultivo (LUHUNG et al., 2015).

Microrganismos não viáveis ou viáveis mas não cultiváveis geralmente são analisados por microscopia, biologia molecular ou imunoenaios (LINDSLEY et al., 2017).

De acordo com Lindsley et al. (2017), vírus em aerossóis são mais difíceis de ser estudados que bactérias e fungos devido à dificuldade de cultura, por serem parasitas intracelulares obrigatórios, por estarem geralmente presentes em baixas concentrações e por serem mais suscetíveis a danos durante a amostragem. Uma solução frequentemente usada para análise de vírus em aerossóis são os métodos baseados em PCR, por serem sensíveis, específicos e consideravelmente mais fáceis de realizar que ensaios de cultura viral. Uma desvantagem da análise por PCR é que não é possível concluir se os vírus são infecciosos ou não, uma vez que não depende da viabilidade dos microrganismos analisados (LINDSLEY et al., 2017).

A Tabela 3.3 apresenta as formas de amostragem de ar e os métodos de análise microbiana usados em alguns trabalhos de análises de bioaerossóis em ETEs.

Tabela 3.3 – Métodos de amostragem e análise de bioaerossóis em ETEs

Amostragem	Análise	Microrganismos	Referências
Filtração com eletreto	Multiplex qPCR e ddPCR	Patógenos entéricos ^{1,2}	(GINN et al., 2021)
Filtração com gelatina	qPCR e RT-qPCR	Adenovírus F e E/D, norovírus e vírus da Hepatite E	(MASCLAUX et al., 2014)
	Sequenciamento	Bactérias e fungos ³	(SZULC et al., 2021)
Filtração com quartzo	Enumeração de colônias e sequenciamento	Bactérias ³	(YANG et al., 2019a)
		Bactérias ³	(YANG et al., 2019b, 2019c, 2020)
	Sequenciamento	Bactérias ³ e fungos ⁴	(HAN et al., 2020a, 2020b; YANG et al., 2021)
Impactação	Enumeração de colônias	Bactérias totais	(YANG et al., 2020)
		Bactérias totais, <i>Enterobacteriaceae</i> , estafilococos, actinomicetos, <i>Pseudomonas fluorescens</i> , fungos totais e fungos xerofílicos	(SZULC et al., 2021)
		Bactérias totais, <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i>	(YANG et al., 2019b, 2019c)
		Bactérias totais, <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> e fungos totais	(HAN et al., 2020a)
		<i>E. coli</i>	(GINN et al., 2021)
		<i>S. aureus</i>	(YAN; WANG; ZHAO, 2021)

Amostragem	Análise	Microrganismos	Referências
		<i>S. aureus</i> e bactérias gram-negativas	(YAN; LENG; WU, 2021)
		<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	(CHEN et al., 2021)
	Enumeração de colônias e sequenciamento	Bactérias ³ e fungos ⁴	(HAN et al., 2019)
		Bactérias intestinais e viáveis	(LI et al., 2021)
	Enumeração de colônias, testes bioquímicos e análise microscópica	Bactérias e fungos	(NIAZI et al., 2015)
	qPCR	Adenovírus	(CARDUCCI et al., 2016)
Impinger	RT-qPCR	Rotavírus e norovírus	(PASALARI et al., 2019)
		SARS-CoV-2	(GHOLIPOUR et al., 2021; POURAKBAR et al., 2022)

¹ Multiplex qPCR: pan-adenovírus, pan-astrovírus, pan-enterovírus, norovírus GI/II, rotavírus A–C, sapovírus I/II/IV/V, *Aeromonas* spp., *Campylobacter coli*, *Clostridium difficile*, 9 *E. coli* genes de virulência, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae*, *Yersinia* spp., *C. parvum*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia duodenalis*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*

² ddPCR: adenovírus A–F, pan-enterovírus, norovírus GI/II, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* / *Shigella* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica termoestável (ST-ETEC), *Salmonella* spp., *Cryptosporidium* spp. e assemblage B de *G. duodenalis*

³ Regiões V3 e V4 do RNA ribossômico 16S

⁴ Região ITS1 do RNA ribossômico 18S

3.5 Avaliação de Risco

A avaliação de risco é uma ferramenta importante para o controle e prevenção da população a agentes ou situações perigosas à saúde. Ela faz parte de uma abordagem maior, denominada Análise de Risco, que também abrange gerenciamento de risco e comunicação de risco. A avaliação de risco envolve a caracterização quantitativa e qualitativa e estimação dos potenciais efeitos adversos da exposição a perigos (HAAS; ROSE; GERBA, 2014); o gerenciamento de risco aborda as medidas corretivas ou preventivas; e a comunicação de risco visa garantir ao grupo exposto o direito à informação e estabelecer medidas de proteção individual (BASTOS; BEVILACQUA; MIERZWA, 2009).

Para Górný (2020), a avaliação de riscos relativa aos bioaerossóis deve envolver a composição quantitativa e qualitativa de agentes microbianos presentes no meio, a distribuição de tamanho das partículas, a quantidade de agentes viáveis e a quantidade necessária para causar reações adversas. E para isso é necessário uma caracterização e identificação de bioaerossóis precisa e acurada.

A partir dos parâmetros mencionados acima, para realizar a avaliação é necessário definir o modelo matemático a ser usado na quantificação do risco. Nos trabalhos analisados foi identificado o uso de duas formas de avaliar o risco de exposição aos bioaerossóis gerados em ETEs: a avaliação quantitativa de risco microbiológico (AQRM) (CARDUCCI et al., 2018; CHEN et al., 2021; DADA; GYAWALI, 2021; PASALARI et al., 2019; ZANETI et al., 2021) e avaliação mediante cálculo de taxas médias diárias de exposição (HAN et al., 2019; YANG et al., 2019a, 2019b).

3.5.1 AQRM

Avaliação Quantitativa de Risco Microbiológico (AQRM) é uma ferramenta usada para estimar riscos à saúde humana associados à exposição a patógenos. Ela se originou a partir do framework de risco químico associado a poluição ambiental (HAAS; ROSE; GERBA, 2014). A AQRM combina conhecimento científico sobre a presença e natureza de patógenos, seu destino potencial, seu transporte, as rotas de exposição humanas e o efeito da exposição na saúde (WHO, 2016).

Apesar da avaliação de risco ser realizada usando, geralmente, parâmetros com grande variabilidade e incerteza, a AQRM é vista como útil para classificar riscos e comparar diferentes problemas e soluções (HAAS; ROSE; GERBA, 2014).

De modo geral, a avaliação do risco com a utilização de AQRM envolve 4 etapas (HAAS; ROSE; GERBA, 2014): identificação do perigo, avaliação da dose-resposta, avaliação da exposição e caracterização do risco.

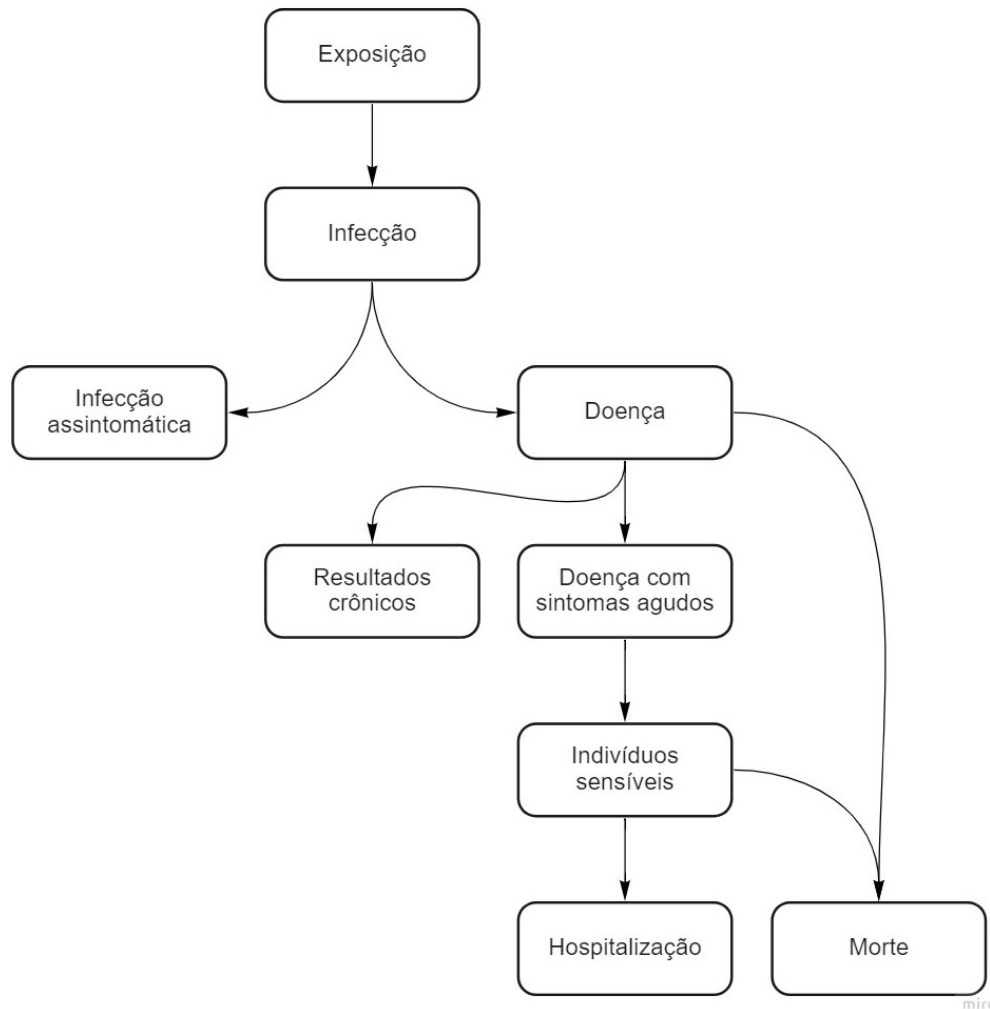
a) Identificação do perigo:

Nesta etapa deve-se identificar os microrganismos patogênicos, as possíveis rotas de transmissão e os possíveis resultados da exposição. A exposição pode resultar em infecção, que é o processo de colonização do microrganismo no corpo e que pode resultar em infecções assintomáticas ou doença (HAAS; ROSE; GERBA, 2014). A doença, por sua vez, pode ter efeitos de caráter crônico ou agudo e pode também resultar em óbito. A Figura 3.1 apresenta as possíveis respostas de uma exposição a patógeno.

b) Avaliação da dose-resposta

A dose-resposta é o potencial que o agente tem de causar uma resposta em diferentes níveis de exposição apresentado como uma caracterização matemática da relação entre a dose do agente e a probabilidade de infecção, doença ou morte na população exposta (HAAS; ROSE; GERBA, 2014).

A definição desse parâmetro pode ser estabelecida a partir de estudos experimentais ou estudos epidemiológicos (BASTOS; BEVILACQUA; MIERZWA, 2009). Os modelos de dose-resposta são específicos para o patógeno, rota de transmissão e hospedeiro (AW, 2018). Entretanto, quando estudos de dose-resposta não estão disponíveis para o microrganismo ou rota de exposição a serem analisados costuma-se utilizar valores relativos a microrganismos semelhantes ou a rotas para as quais já existem estudos. Por exemplo, para o SARS-CoV-2, Dada e Gyawali (2021) consideraram o modelo de dose-resposta do SARS-CoV-1, e para risco a adenovírus por ingestão de água contaminada, durante muito tempo foi usado a dose-resposta obtida a partir de experimentos para inalação (FEDERIGI et al., 2019).

Figura 3.1 – Possíveis resultados da exposição a patógenos

Fonte: Adaptada de Haas; Rose; Gerba (2014)

c) Avaliação da exposição

Nesta etapa deve-se caracterizar os parâmetros de exposição: população exposta, frequência, duração e vias de exposição, e a quantidade de agentes a que o indivíduo é exposto.

d) Caracterização do risco

Nesta etapa quantifica-se o risco para a exposição identificada com a utilização de modelos matemáticos ou de relações diretas entre dose-resposta e exposição.

Avaliações de risco envolvem o uso de valores variáveis e incertezas. A variabilidade se refere a como os valores mudam ao longo do tempo e espaço. A incerteza remete à ausência

de conhecimento quanto aos elementos estudados. Na construção do modelo para AQRM, escolhas subjetivas e suposições são feitas para preencher as lacunas de conhecimento. É importante compreender os impactos das incertezas e variabilidades das variáveis de entrada do AQRM no risco calculado para que as medidas adequadas no gerenciamento de risco sejam tomadas (WHO, 2016).

A quantificação do risco pode ser determinística ou probabilística. No primeiro caso, valores pontuais, como a média, são usados. Já na caracterização probabilística, são usadas as distribuições estatísticas das variáveis, e o risco é calculado através da combinação das distribuições, geralmente por meio de simulações de Monte Carlo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

O risco pode ser calculado em termos de diferentes resultados, como a probabilidade de infecção (P_{inf}), a probabilidade de doença (P_{ill}), o número esperado de casos de doença e a carga de doença. A carga de doença geralmente é apresentada como anos de vida perdidos em consequência da doença pelo indicador DALY (Disability Adjusted Life Years). A DALY é a métrica usada nas diretrizes da WHO para carga de doença (WHO, 2016) e considera a probabilidade de morte e de efeitos agudos e crônicos e pode ser calculado conforme a Equação 3.1 (BASTOS; BEVILACQUA; MIERZWA, 2009):

$$DALY = N \times D \times S \quad (3.1)$$

onde:

N = o número de pessoas afetadas (a partir de registros médicos, estudos epidemiológicos etc.)

D = a duração média do efeito adverso

S = gravidade do efeito (variando de 0 para indivíduo saudável a 1 para óbito)

Quando o efeito adverso é doença, o resultado é dado em termos de anos vividos com a incapacidade (YLD – Years Lived with a Disability), e quando o efeito é o óbito, o resultado da DALY é dado em anos de vida perdidos (YLL – Years of Life Lost) e para o cálculo de D é considerada a expectativa de vida (BASTOS; BEVILACQUA; MIERZWA, 2009).

Para cálculo total da DALY de determinada condição somam-se os anos perdidos por óbito devido à condição e os anos vividos com incapacidade pelos sobreviventes.

3.5.1.1 Utilização da AQRM para avaliar risco de exposição a bioaerossóis em ETEs

Pasalari et al. (2019) usaram AQRM para avaliar o risco de doença e infecção diário e anual por rotavírus e norovírus originários de emissões de aerossóis de uma ETE. Para analisar a exposição, usaram um modelo Gaussiano para simular a dispersão dos bioaerossóis e consideraram a extinção parcial do vírus no meio ambiente conforme a temperatura. O resultado a que chegaram é que o risco de infecção e a carga de doença de trabalhadores na ETE com uma jornada de 8 horas e de residentes das áreas no entorno da ETE são maiores que os limites recomendados pela US EPA e pela WHO, de 10^{-4} e 10^{-6} DALY pppa (por pessoa por ano), respectivamente.

Zaneti et al. (2021) e Dada e Gyawali (2021) usaram AQRM para estimar o risco de SARS-CoV-2 ao qual trabalhadores de ETEs estão expostos considerando diferentes cenários da pandemia a partir de dados da literatura. No trabalho de Zaneti et al. (2021) foi considerado o risco por ingestão de gotículas contendo o vírus, enquanto no de Dada e Gyawali (2021) foi considerada a exposição por inalação. Dada e Gyawali (2021) concluíram que os riscos de exposição ao SARS-CoV-2 no esgoto bruto, via inalação em ETEs, é negligenciável. Por outro lado, em cenários extremos analisados por Zaneti et al. (2021), o risco por ingestão foi maior que o tolerável.

Gholipour et al. (2021) calcularam a relação entre SARS-CoV-2 no esgoto e no ar em uma ETE e utilizaram esse valor junto a informações da literatura sobre excreção fecal do SARS-CoV-2 para estimar a probabilidade de infecção por SARS-CoV-2 dos trabalhadores da ETE. Encontraram probabilidade de infecção entre $1,1 \times 10^{-2}$ e $2,3 \times 10^{-2}$ pppa, o que é maior que o valor de referência considerado por eles, 10^{-3} pppa (GHOLIPOUR et al., 2021).

Chen et al. (2021) usaram AQRM para avaliar a exposição de trabalhadores de ETEs a *S. aureus* e *E. coli*, frequentemente usados como indicadores patogênicos. Concluíram que o uso de equipamentos de proteção individual (EPI), na forma de respiradores N-95, tem um papel significativo na proteção dos trabalhadores, mas que ainda assim o risco de infecção por *E. coli* não é negligenciável. Para considerar EPIs na avaliação, estimaram que a fração de microrganismos removida por seu uso varia entre 95 e 99%. Eles também fizeram uma análise de sensibilidade dos parâmetros utilizados para a avaliação do risco e concluíram que as variáveis que mais afetaram os resultados foram o uso de EPI e a concentração de bactérias.

Yan, Leng e Wu (2021) analisaram o risco de infecção para *S. aureus* e bactérias gram-negativas presentes em bioaerossóis gerados por tanques de aeração em duas ETEs e, dentre suas conclusões, identificaram que o risco de infecção por bactérias gram-negativas para visitantes e inspetores da ETE foi aproximadamente da mesma ordem de magnitude ou uma a mais que a referência da US EPA ($\leq 10^{-4}$ pppa), enquanto que, para pesquisadores, os riscos de infecção foram maiores que a referência em duas ordens de magnitude, uma vez que a duração de exposição deles é maior que a de visitantes e inspetores.

Carducci et al. (2018) utilizaram AQRM para estimar o risco à exposição a adenovírus em bioaerossóis de uma ETE e para calcular os limites de exposição para diferentes níveis de risco. Concluíram que, para 3 minutos de exposição, as concentrações iguais a 565, 170, 54 e 6 CG/m³ ocasionam risco de 1 caso de doença para 100, 1000, 10000 e 100000 trabalhadores, respectivamente. Além disso, analisaram o impacto dos valores usados para taxa de inalação, eficiência de recuperação do vírus e concentração de adenovírus no risco e concluíram que o fator de maior predominância dentre estes foi a concentração do vírus.

Carducci et al. (2016) aplicaram AQRM em diferentes ambientes de trabalho (estações de tratamento de esgoto, aterro de resíduos sólidos e banheiros instalações de saúde e escritórios) por meio de estimativa pontual dos parâmetros e concluíram que, dentre os ambientes analisados, os banheiros são os que oferecem maior probabilidade de infecção por adenovírus. Carducci et al. (2016) questionam o resultado obtido, uma vez que, por exemplo, induz à conclusão implausível de que seria mais importante usar máscara para utilizar um banheiro do que para trabalhar em uma ETE. E ao questionarem, expõem diversas complexidades não abrangidas pelo modelo de avaliação utilizado, como a presença concomitante de outros microrganismos patogênicos, possibilidade de exposição por outras rotas, e o fato de terem considerado todos os serotipos de adenovírus ao invés de apenas os que resultam em doenças.

A Tabela 3.4 apresenta um resumo dos trabalhos mencionados nessa seção.

Tabela 3.4 – Resumo de utilização de AQRM para avaliação de aerossóis de ETEs

Objetivo da avaliação de risco	Agentes	Rota	Resposta	População	Principais conclusões	Referência
Comparação do risco com limites recomendados pela US EPA e WHO	Rotavírus e norovírus	Inalação	Infecção e doença	Trabalhadores de ETEs e população que habita próximo à ETE	Riscos maiores que os limites considerados	(PASALARI et al., 2019)
	SARS-CoV-2	Inalação	Doença e óbito	Trabalhadores de ETEs	Risco relativamente alto	(GHOLIPOUR et al., 2021)
Avaliação do risco a partir de possíveis cenários da pandemia	SARS-CoV-2	Ingestão	Infecção	Trabalhadores de ETEs	Risco maior que tolerável em cenários extremos	(ZANETI et al., 2021)
	SARS-CoV-2	Inalação	Doença	Trabalhadores de ETEs	Risco negligenciável	(DADA; GYAWALI, 2021)
Comparação do risco para diferentes unidades de tratamento na ETE e cálculo da concentração limite de exposição para diferentes níveis de risco	Adenovírus	Inalação	Infecção e doença	Trabalhadores de ETEs	Para 3 min, concentrações iguais a 565, 170, 54 e 6 CG/m ³ ocasionam probabilidade de doença de 10 ⁻² , 10 ⁻³ , 10 ⁻⁴ e 10 ⁻⁵	(CARDUCCI et al., 2018)
Comparação de risco entre diferentes ambientes ocupacionais	Adenovírus	Inalação	Infecção	Trabalhadores	O risco associado à utilização de um banheiro de escritório por 3 minutos é maior que 15 minutos na entrada de uma ETE. Os autores questionam a	(CARDUCCI et al., 2016)

Objetivo da avaliação de risco	Agentes	Rota	Resposta	População	Principais conclusões	Referência
					consistência desse resultado e apresentam diversas complexidades não consideradas no trabalho.	
Comparação do risco para diferentes grupos de frequentadores da ETE	Bactérias gram-negativas e <i>S. aureus</i>	Inalação	Infecção e doença	Trabalhadores de ETEs (engenheiro de campo e técnico de laboratório) e frequentadores temporários (pesquisadores, visitantes e inspetores)	Riscos consideráveis. Risco para mulheres geralmente menor que para homens adultos. Trabalhadores têm risco maior que frequentadores temporários.	(YAN; LENG; WU, 2021)
Avaliação da importância de EPI	<i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i>	Inalação	Infecção e doença	Trabalhadores de ETEs	EPI tem papel significativo na proteção dos trabalhadores	(CHEN et al., 2021)

3.5.1.2 Modelos de dose-resposta para adenovírus

Uma vez que neste trabalho foi avaliado o risco de infecção por adenovírus, uma análise dos modelos de dose-resposta utilizados foi realizada.

Dois modelos de dose-resposta têm sido utilizados para avaliação de risco à exposição a adenovírus: exponencial e de beta Poisson.

Os trabalhos que utilizam o modelo exponencial (Equação 3.2) geralmente utilizam $k = 0,4172$, que, de acordo com Crabtree et al. (1997), surgiu da interpretação de Rose, Haas e Gerba (1996) sobre o trabalho de Couch et al. (1966), que investigou os efeitos respiratórios de aerossol contendo adenovírus tipo 4 em homens adultos saudáveis.

$$P_{inf} = 1 - e^{-k \times dose} \quad (3.2)$$

onde:

P_{inf} = probabilidade de infecção

k = parâmetro do modelo de dose-resposta

dose = quantidade de microrganismos da dose de exposição

Entretanto, existe uma discordância quanto à unidade de medida que a variável de dose deve ter para atender à Equação 3.2. Crabtree et al. (1997) utilizam a dose em NMP, outros trabalhos usam UFP (CARDUCCI et al., 2016; SOLLER et al., 2017) e TCID₅₀ (LIM; HAMILTON; JIANG, 2015; VERGARA; ROSE; GIN, 2016). Não foi possível encontrar o trabalho original de Rose, Haas e Gerba (1996) para avaliar qual unidade é utilizada nele.

Por outro lado, a QMRA Wiki, um portal comunitário com informações relacionadas a AQRM, propõe para o adenovírus um modelo de dose-resposta exponencial com $k = 0,607$, resultante da interpretação do mesmo estudo mencionado acima de Couch et al. (1966) (CAMRA, [s.d.]). Para esse, a unidade utilizada para dose deve ser TCID₅₀.

O modelo beta Poisson que têm sido utilizado (CARDUCCI et al., 2018; GONZALES-GUSTAVSON et al., 2019; LANZARINI et al., 2022) é resultante do trabalho de Teunis, Schijven e Rutjes (2016), desenvolvido a partir de 5 diferentes estudos que abrangem 3 tipos de adenovírus (AdV4, AdV7, AdV16) e 4 rotas de exposição (inalação, oral, nasal e ocular). Até o desenvolvimento desse modelo, os estudos que realizavam a AQRM para exposição a

adenovírus por ingestão utilizavam o modelo de dose-resposta desenvolvido para exposição por inalação (FEDERIGI et al., 2019).

No modelo de Teunis, Schijven e Rutjes (2016) é proposto que a probabilidade de infecção (P_{inf}) seria expressa por um modelo beta-Poisson apresentado na Equação 3.3, com α e β variáveis de acordo com a rota de exposição, e dose apresentada em TCID₅₀. Para inalação, $\alpha = 5,24$ e $\beta = 2,95$ (TEUNIS; SCHIJVEN; RUTJES, 2016).

$$P_{inf} = 1 - {}_1F_1(\alpha, \alpha + \beta; -dose) \quad (3.3)$$

onde:

P_{inf} = probabilidade de infecção

${}_1F_1$ = função hipergeométrica confluyente de Kummer

α e β = parâmetros do modelo de dose-resposta

dose = quantidade de microrganismos da dose de exposição

3.5.1.3 Valores de referência

De acordo com Chen et al. (2021), os valores de referência usados mais frequentemente são a probabilidade anual de infecção da US EPA, de 10^{-4} pppa, e a carga de doença aceitável pela WHO, de 10^{-6} DALY pppa. Entretanto, sugerem que esses valores podem não ser representativos para diferentes regiões.

Wu et al. (2022) ressaltam que diversos trabalhos expressam que os valores mencionados acima são conservadores e até mesmo impraticáveis. Em seu trabalho, considerando exposição a *S. aureus* e *E. coli* presentes em aerossóis em uma ETE, consideraram como tolerável a probabilidade de risco de infecção de 10^{-3} pppa. Já Mara et al. (2006), analisando o risco de uso do esgoto para irrigação, consideraram tolerável a probabilidade de risco de infecção de 10^{-2} pppa por entenderem que esse nível é maior que a média de ocorrências anuais de diarreia, que varia de 0,1 a 1 pppa.

3.5.2 **Cálculo de taxas médias diárias de exposição (ADD)**

Yang et al. (2019a) sugerem que devido à complexidade das comunidades bacterianas presentes em bioaerossóis de ETEs, um modelo que use taxas médias de doses diárias (Average Daily Dose Rates - ADD) de exposição seja usado ao invés da análise por AQRM.

Esse modelo depende do cálculo da quantidade de microrganismos, não sendo necessário especificar quais, a que o indivíduo é exposto em um dia. Compara-se então essa dose com a dose de referência, gerando o quociente de risco (HQ), apresentando na Equação 3.4 e a soma dos quocientes de risco para cada rota de exposição resulta no índice de risco (HI) apresentado na Equação 3.5 (YANG et al., 2019a):

$$HQ = \frac{ADD}{RfD} \quad (3.4)$$

onde:

HQ = quociente de risco

ADD = taxa diária de exposição

RfD = dose de referência

$$HI = \sum HQ_i \quad (3.5)$$

onde:

HI = índice de risco

HQ = quociente de risco

De acordo com o comitê de bioaerossóis da American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), citado por Yang et al. (2019a), a exposição a bactérias cultivadas não pode exceder 500 UFC/m³ em um dia de trabalho.

Han et al. (2019), Yang et al. (2019a) e Yang et al. (2019b) utilizaram essa metodologia para avaliar o risco de exposição a bioaerossóis em ETEs.

Yang et al. (2019a) concluíram que o risco de inalação de bioaerossóis para adultos nas ETEs é negligenciável. Contudo, os resultados de Yang et al. (2019b) indicaram riscos significativos para inalação, com HQ igual a 2,09, 1,98 e 1,90 para aerossóis gerados na secagem do lodo, na seção de aeração da vala de oxidação e no gradeamento fino, respectivamente. Yang et al. (2019b) também concluíram que o risco por inalação é cerca de 10⁶ vezes maior que o risco por contato da pele.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

4.1.1 Estações de Tratamento de Esgoto

Foram selecionadas duas ETEs para o estudo, que serão aqui denominadas ETE A e ETE B. As ETEs foram escolhidas por terem porte semelhante e utilizarem diferentes processos para o tratamento secundário do esgoto. A identidade e localização das ETEs estudadas são sigilosas.

Na ETE A, o tratamento secundário do esgoto é realizado via reatores UASB e filtros biológicos percoladores; e na ETE B, por meio de lodos ativados convencional com aeração por difusores de membrana.

4.1.2 Campanhas de amostragem

Foram realizadas duas campanhas de amostragem, uma para cada ETE. A Campanha 1, na ETE A, ocorreu entre os dias 18 e 25 de janeiro de 2021, durante o verão, resultando em 5 dias de amostragem. Era esperado que nesse período houvesse uma alta de casos de COVID-19 devido às comemorações de fim de ano, e, portanto, a carga viral de SARS-CoV-2 no esgoto favoreceria a coleta do vírus nos aerossóis da ETE se, de fato, estivessem sendo aerolizados.

A Campanha 2, na ETE B, ocorreu entre os dias 14 e 18 de março de 2022, durante o verão, resultando em 5 dias de amostragem.

4.1.3 Locais

Os locais de amostragem de ar foram escolhidos considerando os resultados já existentes na literatura, a presença de trabalhadores e a percepção de grande movimentação de esgoto. Além das amostragens nas proximidades de unidades potencialmente geradoras de aerossóis, nas duas ETEs escolheu-se, também, um local a montante das instalações, considerando o sentido do vento predominante na região, para amostragem do ar antes da suposta contaminação.

De acordo com as Normais Climatológicas do período de 1991 a 2020, a direção predominante do vento na região em janeiro, mês da Campanha 1, é Nordeste, e em março, mês da Campanha 2, é Leste (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET, 2022). Sendo assim,

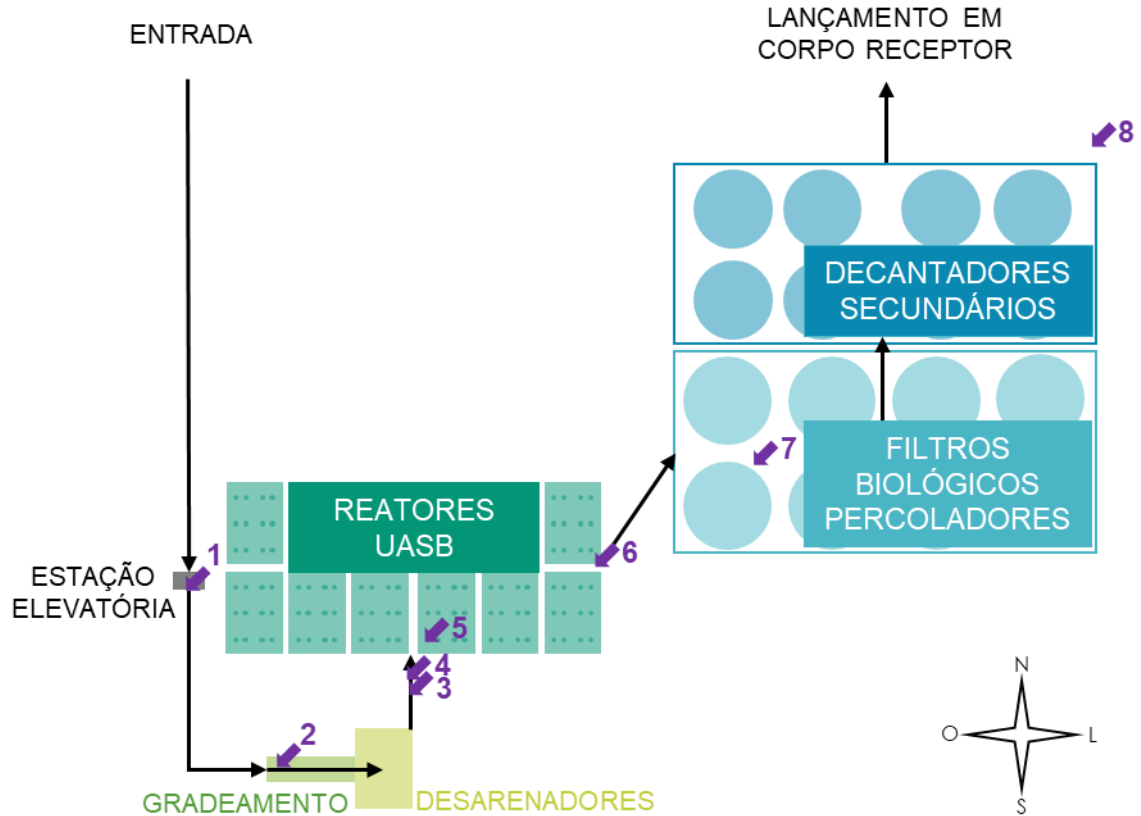
em ambas as campanhas buscou-se colocar o equipamento para amostragem de montante em local mais a leste das instalações das ETEs. Durante a Campanha 1, a direção média do vento analisada em estações meteorológicas da região foi de 98°, enquanto na Campanha 2 foi de 92° (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET, [s.d.]). Ambos os valores indicam que a direção média do vento estava aproximadamente de Leste.

Os locais de amostragem na ETE A são apresentados na Figura 4.1 e Tabela 4.1 e na ETE B, na Figura 4.2 e Tabela 4.2:

Tabela 4.1 – Locais de amostragem na ETE A

Local	Motivação
Estação elevatória de esgoto bruto	Muita turbulência
Gradeamento grosso no tratamento preliminar	Muita turbulência Registro na literatura (FATHI et al., 2017; LOU et al., 2021; YANG et al., 2019a)
Vertedouro entre desarenadores e UASB	Muita turbulência – havia um plástico, aparentemente temporário, cobrindo parcialmente o local O canal é localizado no local de passagem de trabalhadores entre o tratamento preliminar e o tratamento secundário
Compartimento de distribuição de afluente de reator UASB	Leve turbulência Avaliação dos aerossóis gerados nessa etapa de tratamento
Calha Parshall UASB (efluente UASB)	Localização a jusante de quase todo o tratamento secundário na ETE Turbulência
Borda de filtro biológico percolador (FBP)	Aspersão de esgoto Avaliação dos aerossóis gerados nessa etapa de tratamento
Montante da ETE considerando o sentido do vento	Referência de aerossóis antes das instalações da ETE

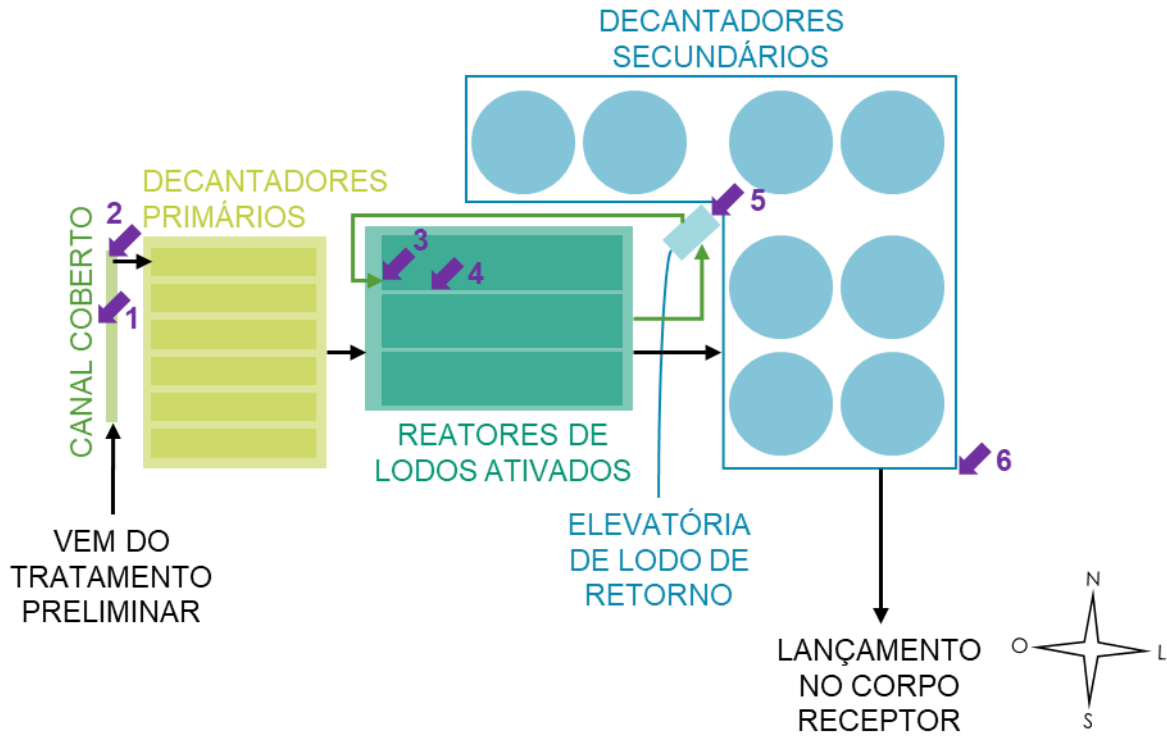
Figura 4.1 – Diagrama esquemático do posicionamento dos amostradores na ETE A



LEGENDA

- | | |
|---|-----------------------------------|
| 1 Estação elevatória | 5 UASB |
| 2 Gradeamento grosso | 6 Calha Parshall – efluente UASB |
| 3 Vertedouro entre desarenadores e UASB | 7 Filtros biológicos percoladores |
| 4 Vertedouro entre desarenadores e UASB | 8 Montante |
| Pontos de amostragem | Fluxo do esgoto |

Figura 4.2 – Diagrama esquemático do posicionamento dos amostradores na ETE B



LEGENDA

- 1 Jusante
- 2 Canal entre tratamento preliminar e decantadores primários
- 3 Entrada do lodo de retorno nos reatores de lodos ativados
- 4 Reator de lodos ativados
- 5 Elevatória de lodo de retorno
- 6 Montante

↙ Pontos de amostragem
 → Fluxo do esgoto
 → Fluxo do lodo

Tabela 4.2 – Locais de amostragem na ETE B

Local	Motivação
Jusante da ETE considerando o sentido do vento (Figura 4.3)	Localização a jusante de quase todo o tratamento primário e secundário na ETE
Canal por onde passa o afluente dos decantadores primários (Figura 4.4)	Muita turbulência Canal coberto
Entrada do lodo de retorno no tanque de lodos ativados (Figura 4.5)	Muita turbulência
Reator de lodos ativados (Figura 4.6)	Possível geração de aerossóis devido à aeração
Elevatória de retorno de lodo - tipo parafuso de Arquimedes (Figura 4.7)	Intensa geração de gotículas
Montante da ETE considerando o sentido do vento (Figura 4.8)	Referência de aerossóis antes das instalações da ETE

Figura 4.3 – Amostrador de grande volume a jusante da ETE B

Figura 4.4 – Amostrador de pequeno volume no canal por onde passa o afluente dos decantadores primários



Figura 4.5 – Amostrador de pequeno volume na entrada do lodo de retorno no tanque de lodos ativados



Figura 4.6 – Amostrador de médio volume no reator de lodos ativados



Figura 4.7 – Amostrador de médio volume na elevatória de lodo de retorno



Figura 4.8 – Amostrador de grande volume a montante da ETE B



4.1.4 Amostragem de aerossóis

A coleta de aerossóis foi realizada por filtração com amostradores de grande, médio e pequeno volume, equipados com filtro. Os equipamentos de amostragem foram:

- Amostradores de grande volume (AGV, Energética®) para partículas totais em suspensão com vazão calibrada de 1130 L/min
- Amostradores de grande volume (AGV, Energética®) para partículas inaláveis em suspensão (até 10 μm) com vazão calibrada de 1130 L/min (Figuras 4.3 e 4.8)
- Bomba de amostragem digital Accura-3 (CRIFFER®) com vazão calibrada de 2 L/min (Figura 4.9)
- Bomba de vácuo conectada a aparato acrílico com vazão calibrada de 18 L/min
- Amostrador N-FRM (ARA Instruments®), com vazão nominal de 16,7 L/min (Figuras 4.6 e 4.7)

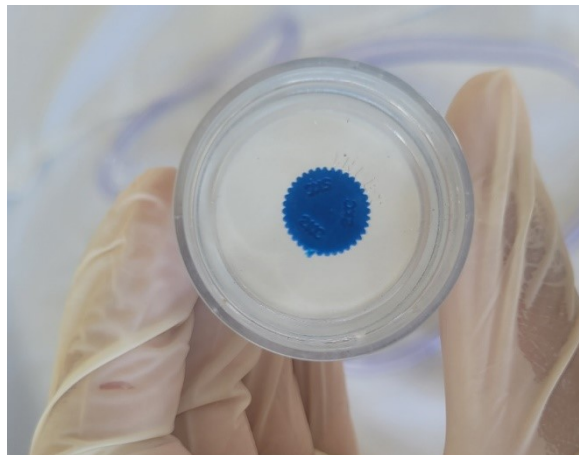
Figura 4.9 – Bomba de amostragem digital Accura-3 (CRIFFER®) conectada a cassete



Foram utilizados filtros de quartzo (WHATMAN QM-A, Energética®), de 203 x 254 mm nos amostradores de grande volume nas duas campanhas, e nos demais amostradores foram usadas membranas de PTFE, diâmetro de 37 mm, e de gelatina (Sartorius®), diâmetro de 37 mm, nas campanhas da ETE A e ETE B, respectivamente.

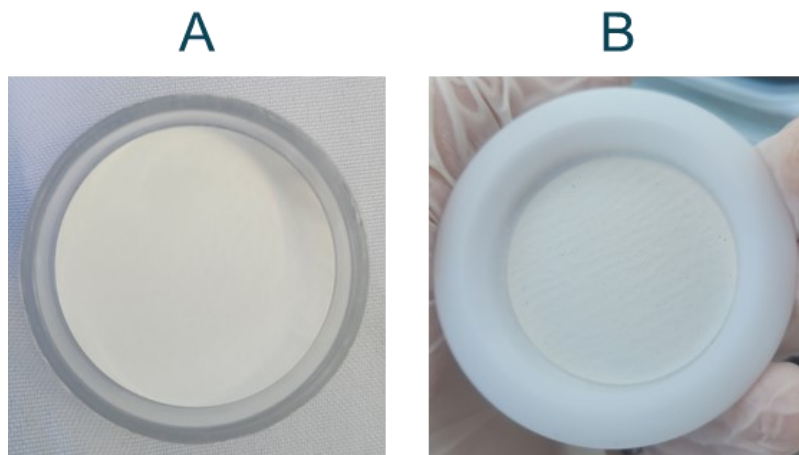
Para a utilização das bombas de amostragem digital Accura-3 (CRIFFER®), a membrana, tanto de PTFE quanto de gelatina, foram colocadas dentro de um cassete (Figura 4.10) conectado à bomba por uma mangueira.

Figura 4.10 – Cassete com membrana de gelatina



Uma vez que o amostrador N-FRM requeria membrana de 47 mm de diâmetro, ao colocar a membrana de gelatina no suporte para filtro, ela não cobria toda a área de passagem do ar. Para evitar que houvesse diferença muito significativa entre a perda de carga na área da membrana e nas bordas entre a membrana e o suporte, foi usado entre o suporte e a membrana de gelatina um microfiltro de fibra de vidro GF-2 de diâmetro de 47 mm (MACHEREY-NAGEL®) (Figura 4.11).

Figura 4.11 – (A) Parte inferior do suporte de filtro do amostrador N-FRM com microfiltro de fibra de vidro Ø47mm e (B) suporte com a parte superior e membrana de gelatina Ø37mm posicionados



As Tabelas 4.3 e 4.4 apresentam as combinações de amostrador e filtro usadas para amostragem em cada uma das ETEs.

Após a amostragem, os filtros foram mantidos refrigerados até os procedimentos de extração. Os filtros que estavam em cassetes foram mantidos nos cassetes fechados, os filtros de quartzo dos amostradores de grande volume foram dobrados e armazenados em pacotes de plástico limpos, e as membranas de gelatina usadas no amostrador N-FRM foram fragmentadas com pinça esterilizada e armazenadas em tubos de 1,5 mL.

Tabela 4.3 – Materiais de amostragem usados em cada local na ETE A

Local de Amostragem	Equipamento	Vazão do equipamento de amostragem (L/min)	Duração	Meio de Coleta
Estação elevatória de esgoto bruto	Bomba de vácuo conectada a aparato acrílico	18	Aprox. 6 horas	PTFE Ø37 mm
Gradeamento grosso no tratamento preliminar	Amostradores de grande volume para partículas totais em suspensão	1130	Aprox. 6 horas	Filtro de quartzo 203 x 254 mm
	Bomba de amostragem digital Accura-3	2	Aprox. 6 horas	PTFE Ø37 mm
Vertedouro entre desarenadores e UASB	Bomba de amostragem digital Accura-3	2	Aprox. 6 horas	PTFE Ø37 mm
Compartimento de distribuição de afluente de reator UASB	Amostradores de grande volume para partículas totais em suspensão	1130	Aprox. 6 horas	Filtro de quartzo 203 x 254 mm
Calha Parshall UASB (efluente UASB)	Bomba de amostragem digital Accura-3	2	Aprox. 6 horas	PTFE Ø37 mm
Borda de filtro biológico percolador	Amostradores de grande volume para partículas totais em suspensão	1130	Aprox. 6 horas	Filtro de quartzo 203 x 254 mm
Montante da ETE considerando o sentido do vento	Amostradores de grande volume para partículas totais em suspensão	1130	Aprox. 6 horas	Filtro de quartzo 203 x 254 mm

Tabela 4.4 – Materiais de amostragem usados em cada local na ETE B

Local de Amostragem	Equipamento	Vazão do equipamento de amostragem (L/min)	Duração	Meio de Coleta
Jusante da ETE considerando o sentido do vento	Amostradores de grande volume para partículas inaláveis em suspensão (até 10 µm)	1130	24 horas	Filtro de quartzo 203 x 254 mm
Canal por onde passa o afluente dos decantadores primários	Bomba de amostragem digital Accura-3	2	Aprox. 6 horas	Membrana de gelatina Ø37 mm
Entrada do lodo de retorno no tanque de lodos ativados	Bomba de amostragem digital Accura-3	2	Aprox. 6 horas	Membrana de gelatina Ø37 mm
Reator de lodos ativados	Amostrador N-FRM	16,7	Aprox. 6 horas, com reposição da membrana a cada 3 horas	Membrana de gelatina Ø37 mm
Elevatória de retorno de lodo (tipo parafuso de Arquimedes)	Amostrador N-FRM	16,7	Aprox. 6 horas, com reposição da membrana a cada 3 horas	Membrana de gelatina Ø37 mm
Montante da ETE considerando o sentido do vento	Amostradores de grande volume para partículas inaláveis em suspensão (até 10 µm)	1130	24 horas	Filtro de quartzo 203 x 254 mm

4.1.5 Amostragem do esgoto (fase líquida)

Assumindo a hipótese de que os microrganismos patogênicos nos aerossóis de ETEs se originam do esgoto, além de monitorar os microrganismos presentes nos aerossóis a montante da ETE, como mencionado no item anterior, é interessante quantificá-los nas matrizes que os originam, ou seja, o esgoto e os lodos.

Na ETE A foi possível realizar amostragem composta nos pontos escolhidos durante todo o período de amostragem de aerossóis. Já na ETE B, por motivos logísticos, realizou-se amostragem apenas uma vez por dia em cada ponto de amostragem.

4.1.5.1 Campanha 1 – ETE A

Na ETE A o esgoto foi coletado no compartimento de distribuição de afluente dos reatores UASB e no centro de distribuição dos afluentes dos filtros biológicos percoladores.

A cada 1 hora, aproximadamente, um volume de esgoto era coletado nos pontos de amostragem e armazenados de modo a totalizar aproximadamente 1 L ao fim da coleta dos aerossóis. A amostragem foi realizada com o auxílio de balde, corda, proveta e funil, e o material coletado armazenado em frascos âmbar previamente lavados com detergente Extran. No momento das coletas, realizou-se a ambientação do frasco, balde, proveta e funil. A cada coleta, com uso de sonda multiparâmetro Professional Plus (YSI), foram medidos temperatura, pressão atmosférica, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, condutividade, sólidos totais dissolvidos e potencial de oxirredução.

Após a amostragem, as amostras foram mantidas refrigeradas até procedimento de concentração para análise microbiológica realizado em menos de 24 horas a partir da coleta.

4.1.5.2 Campanha 2 – ETE B

Na ETE B foram realizadas a coleta do esgoto após tratamento preliminar e no reator de lodos ativados e a coleta do lodo de retorno na entrada deste no tanque de lodos ativados.

Foram coletados aproximadamente 1 L de esgoto e lodo e, a cada coleta, com uso de sonda multiparâmetro, foram medidos temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade.

Após a amostragem, as amostras foram transferidas para tubos Falcon de 50 mL e congeladas a -20°C até procedimento de concentração para análise microbiológica, uma vez que não foi possível, por motivos logísticos, realizar a concentração para análise microbiológica em menos de 24 horas a partir da coleta.

4.2 Análise de Parâmetros Físico-Químicos da Fase Líquida

Além dos parâmetros avaliados com as sondas multiparâmetro durante as amostragens, mencionados na seção anterior (4.1.5), foram analisados, em laboratório, os sólidos presentes no esgoto e lodo. Para isso a concentração de sólidos suspensos totais, voláteis e fixos nas amostras de esgoto (SST, SSV e SSF) e de sólidos totais voláteis e fixos nas amostras de lodo (ST, STV, STF) foram determinadas de acordo com procedimentos padrões (APHA-AWWA-WEF, 2017).

4.3 Análise Microbiológica

4.3.1 Concentração das amostras de esgoto

Realizou-se a concentração das amostras de esgoto em membrana eletronegativa para análise microbiológica de acordo com procedimento estabelecido por Bivins et al. (2020) (AHMED et al., 2020). Para isso, uma solução de MgCl_2 (2,5 M) foi adicionada à amostra em uma proporção de 1 para 100. Em seguida adicionou-se HCl até que o pH da amostra ficasse entre 3 e 3,5. Após acidificação, a amostra foi filtrada em membrana eletronegativa (S-Pak®, 0,45 μm , Millipore). Para as amostragens realizadas na Campanha 2, o volume filtrado foi de aproximadamente 30 mL. Já para a Campanha 1, filtrou-se até a colmatação da membrana.

As membranas resultantes da filtração das amostras da Campanha 1 foram armazenadas em tubos de 1,5 mL a -80°C . As membranas da Campanha 2 foram armazenadas durante menos de 24 horas a -20°C , até extração.

4.3.2 Centrifugação das amostras de lodo de retorno

Para análise dos microrganismos presentes no lodo de retorno amostrado na ETE B, aproximadamente 45 mL de lodo foram centrifugadas a 10000 rpm por 15 minutos. Descartou-

se o sobrenadante e aproximadamente 0,5 g de lodo foi transferido para tubos específicos para extração de DNA.

4.3.3 Eluição dos filtros de quartzo e PTFE

Para a análise das partículas coletadas nos filtros de quartzo pelos amostradores de grande volume, foi realizada a eluição dos filtros. Para isso, no centro do filtro recortou-se um quadrado de 10 cm de lado e esse recorte foi usado para a eluição. Considerando que as dimensões da área total de filtração dos amostradores de grande volume são 23 e 17,5 cm, a área total de filtração é de 402,5 cm², e, portanto, a área do filtro analisada (100 cm²) representa 24,84% do volume de ar amostrado.

Uma vez que equipes diferentes em laboratórios diferentes realizaram o procedimento de eluição em cada uma das campanhas, foram utilizadas duas metodologias.

4.3.3.1 Campanha 1 – ETE A

Para a Campanha 1, as partículas retidas nos filtros de quartzo e de PTFE foram extraídas com o uso de swab de superfície com 1 mL de solução tampão de isotiocianato de guanidina, 4M. Em seguida, o restante do filtro foi triturado e junto com a ponta do swab foi misturado a água deionizada esterilizada para extração líquida em um misturador, resultando em um volume eluído de 2 mL.

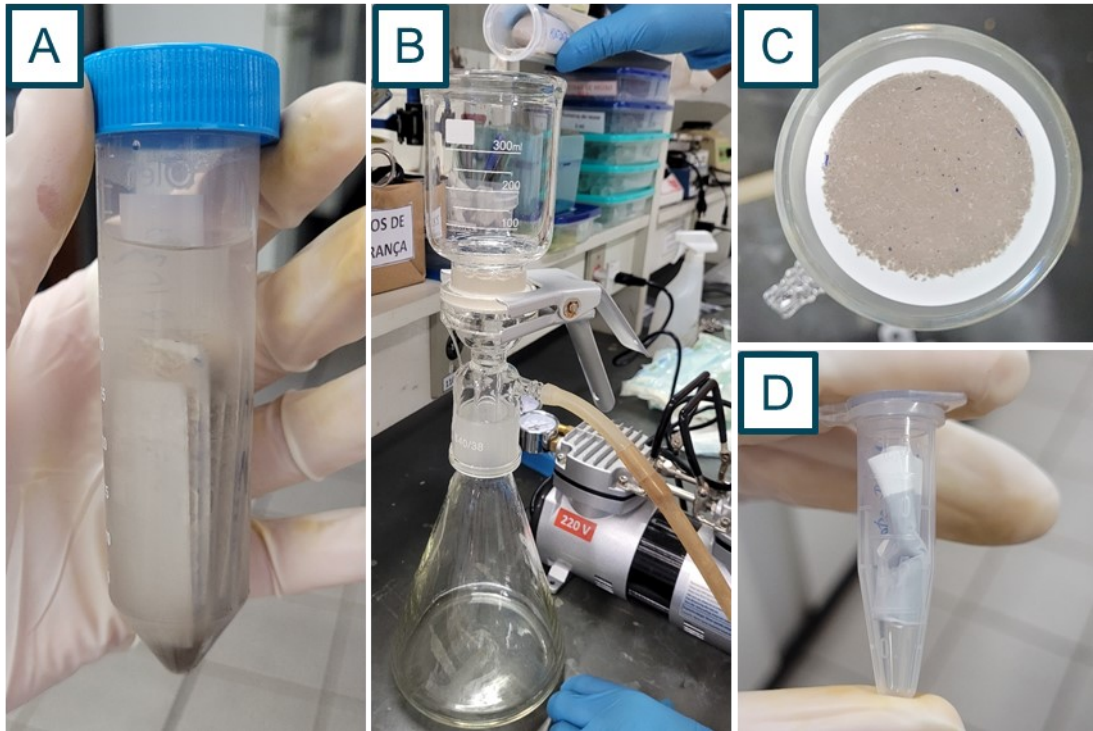
4.3.3.2 Campanha 2 – ETE B

Dividiu-se o quadrado de 10 cm x 10 cm recortado do filtro em 12 tiras de aproximadamente 1,67 cm x 5 cm. Em seguida, as tiras foram colocadas em um tubo falcon. O volume do tubo foi completado até aproximadamente 40 mL com solução PBS 1X (Sigma). Utilizou-se vórtex (BR-2000 Vortexer, Bio-Rad®) para manter o conteúdo em agitação por 2,5 minutos e, em seguida, foi realizada centrifugação por 90 minutos a 4°C e 200 rpm (JIANG et al., 2015).

O sobrenadante foi filtrado em filtro de membrana de mistura de ésteres, de diâmetro de 47 mm e porosidade de 0,2 µm (Química Moderna ®). A membrana foi armazenada em tubo de 1,5 mL a -20°C até extração.

A Figura 4.12 ilustra algumas das etapas descritas acima.

Figura 4.12 – Eluição dos filtros de quartzo: (A) filtro recortado em tubo Falcon com solução PBS; (B) aparato para filtração; (C) membrana após filtração do sobrenadante; (D) tubo Eppendorf com membrana



4.3.4 Extração

4.3.4.1 Campanha 1 – ETE A

A extração de RNA das amostras de aerossóis da Campanha 1 para análise de SARS-CoV-2 foi realizada pelo Lab Vírus do ICB de forma similar ao executado no trabalho de Abrahão et al. (2021) e Passos, Silveira e Abrahão (2021). Utilizou-se QIAmp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN®) para extrair o material genético de 70 μL do material resultante da eluição das membranas.

A extração do DNA das amostras coletadas na ETE A foi realizada com FastDNA Spin Kit for Soil (MPBiomedicals) seguindo as instruções do fabricante. Para as amostras de aerossóis, como a extração foi realizada a partir do eluato líquido resultante da eluição dos filtros de quartzo e PTFE pelo procedimento descrito na seção 4.3.3.1, após transferência do material para tubos de extração, as amostras foram centrifugadas a 14000 rpm durante 15 minutos a 4°C e o sobrenadante foi descartado.

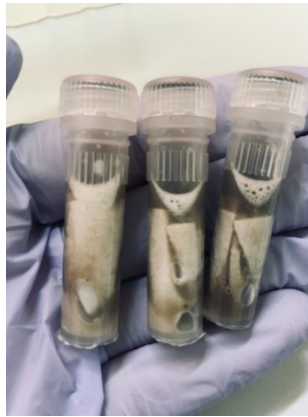
O material extraído foi armazenado a -80°C até a realização das análises.

4.3.4.2 Campanha 2 – ETE B

A extração do material genético das amostras coletadas na ETE B foi realizada com FastDNA Spin Kit for Soil (MPBiomedicals) seguindo as instruções do fabricante. Para as membranas de gelatina foi necessário aquecê-las a 37°C para que o material dissolvesse e permanecesse em estado líquido. O material extraído foi armazenado a -80°C até a realização das análises.

A Figura 4.13 apresenta as membranas resultantes da eluição dos filtros de quartzo dentro de tubos para a primeira etapa da extração, em que ocorre a solubilização das proteínas na membrana assim como a ruptura mecânica das paredes celulares.

Figura 4.13 – Membranas resultantes da eluição dos filtros de quartzo na primeira etapa da extração do material genético



4.3.4.3 Quantificação do material genético

Após a extração, o material genético foi quantificado usando o NanoDrop™ (Thermo Fisher) (Figura 4.14). A partir da análise, identificou-se quais amostras estavam com muitos compostos inibidores e, então, essas amostras passaram por diluição de 10 vezes.

Figura 4.14 – NanoDrop™ utilizado para quantificar o material genético extraído



4.3.5 Análise microbiológica

A Tabela 4.5 apresenta um resumo dos microrganismos analisados nas amostras de aerossóis e fase líquida de cada ETE.

SARS-CoV-2 foi analisado apenas nos aerossóis da Campanha 1. Como o vírus não foi detectado em nenhuma das amostras de aerossóis analisadas, optou-se por não o analisar na fase líquida da campanha. Também devido à não detecção optou-se por não realizar a análise de SARS-CoV-2 nas amostras da Campanha 2, mas direcionar os esforços para a análise de microrganismos de DNA.

Realizou-se análise de todos os microrganismos de DNA previstos nas amostras dos aerossóis e da fase líquida da Campanha 2. Por motivos logísticos, as análises dos microrganismos de DNA nas amostras da fase líquida da Campanha 1 não foram realizadas. Além disso, pelos mesmos motivos, não foi possível analisar bactérias 16S e *H. influenzae* nas amostras de aerossóis da Campanha 1.

Desta forma, alguns dos objetivos específicos, como a análise da relação entre microrganismos nos aerossóis e na fase líquida ficaram comprometidos.

Tabela 4.5 – Microrganismos analisados nas amostras de cada ETE

	ETE A		ETE B	
	Fase líquida	Aerossóis	Fase líquida	Aerossóis
SARS-CoV-2	Não	Sim	Não	Não
Adenovírus	Não	Sim	Sim	Sim
Bactérias 16S	Não	Não	Sim	Sim
<i>H. influenzae</i>	Não	Não	Sim	Sim
<i>P. aeruginosa</i>	Não	Sim	Sim	Sim
<i>S. aureus</i>	Não	Sim	Sim	Sim

4.3.5.1 SARS-CoV-2

A análise de SARS-CoV-2 nas amostras de aerossóis da Campanha 1 foi realizada pelo Lab Vírus do ICB de forma similar ao executado no trabalho de Abrahão et al. (2021) e Passos, Silveira e Abrahão (2021). Foram usados primers e sondas específicos para as regiões N1 e N2 do genoma do SARS-CoV-2. As condições para que uma amostra fosse considerada positiva

para o vírus analisado seria se ocorresse a amplificação de ambas as regiões e tivessem Ct (cycle threshold) menor que 40.

4.3.5.2 Demais microrganismos

As reações para a análise qPCR foram realizadas em duplicata e compostas por 5 µL de amostra, 10 µL de PowerUp SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher), 0,5 µL de cada primer e 4 µL de água.

Foram analisados adenovírus, bactérias 16S, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os primers utilizados (Integrated DNA Technologies, Inc.) são apresentados na Tabela 4.6. Para análise de *H. influenzae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* as regiões alvo foram desenhadas *in silico* utilizando a plataforma do Centro Nacional de Informação Biotecnológica dos Estados Unidos (National Center for Biotechnology Information) (NCBI, [s.d.]).

As condições de ciclagem foram adaptadas a partir do manual de instruções do PowerUp SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher) e são apresentadas na Tabela 4.7.

Tabela 4.6 – Primers usados na análise por qPCR

Microrganismo	Sequências (5'-3')	Tamanho do Amplicon (bp)	Referência
Adenovírus	F: GGACGCCTCGGAGTACCTGAG R: ACIGTGGGGTTTCTGAACTTGTT	96	(VERBYLA et al., 2016)
Bactérias 16S	F: CCTACGGGNGGCWGCAG R: GACTACHVGGGTATCTAATCC	464	(KLINDWORTH et al., 2013)
<i>Haemophilus influenzae</i>	F: CGACGTTGCAAGAAATGGCA R: CATAAACGGCTGCCCAAACC	107	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	F: CGAACAGCGCATTACGTTAG R: ACATGTCTGGCTGGTCAAGG	152	*
<i>Staphylococcus aureus</i>	F: CACAACCAGTTGCACAACCA R: GGCCGCTTTGTTCCATTGTT	153	*

F = forward, R = reverse

* Primers desenhados *in silico*

Tabela 4.7 – Condições de ciclagem do qPCR

Etapa	Condições	Ciclos
Pré-ciclagem	50 °C por 2 minutos 95 °C por 2 minutos	-
Desnaturação	95 °C por 15 segundos	40
Anelamento e extensão	60 °C por 2 minutos (bactérias 16S) 60 °C por 1 minuto (demais microrganismos)	40

4.4 Análise Estatística dos Dados

A análise estatística dos dados foi realizada com testes não-paramétricos uma vez que para os diferentes agrupamentos de dados não houve uma quantidade suficiente de dados para garantir normalidade. Os testes foram realizados usando Real Statistics Resource Pack, versão 8.2.1 (ZAIONTZ, 2022), como extensão ao Microsoft Excel®.

Os testes realizados para comparar os valores centrais das amostras, tanto de aerossóis quanto de esgoto, são apresentados, junto às hipóteses nulas e alternativas, na Tabela 4.8. Para todos os testes, considerou-se nível de significância $\alpha = 0,05$.

Além da comparação entre os valores centrais, analisou-se a correlação entre a concentração de microrganismos encontrada nos aerossóis e a concentração encontrada na fase líquida, ou seja, a fonte geradora, com o auxílio de gráficos.

Tabela 4.8 – Testes estatísticos usados para comparar valores centrais das amostras

Dados	Teste	Hipótese
Concentração de microrganismos nos aerossóis a montante da ETE e dentro da ETE B	U de Mann-Whitney	H ₀ : medianas das concentrações iguais H _a : medianas das concentrações diferentes
Concentração de microrganismos no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B	U de Mann-Whitney	H ₀ : medianas das concentrações iguais H _a : mediana das concentrações diferentes
Comparação entre concentrações de microrganismos coletados no canal do afluente do Tratamento Primário, na entrada do lodo de retorno no tanque de lodos ativados, no reator de lodos ativados, na elevatória de retorno de lodo e à jusante da ETE B	Kruskal-Wallis seguido por Teste de Dunn	H ₀ : medianas das concentrações iguais H _a : medianas das concentrações diferentes

4.4.1 Não detectados

Para todos os casos em que não foi possível detectar os microrganismos nas amostras, os valores foram reportados como ND e nas análises estatísticas e gráficos foram considerados como 0.

4.5 Avaliação de Risco de Infecção por Adenovírus

Decidiu-se realizar a avaliação de risco para adenovírus devido a sua presença, estabilidade e persistência notáveis nos esgotos (MOMBA et al., 2019). Os outros microrganismos analisados por este trabalho não foram considerados na avaliação de risco por não serem patógenos obrigatórios ou por não terem bem estabelecidos na literatura sua presença e estabilidade nos esgotos.

4.5.1 Identificação do perigo

O perigo avaliado por este trabalho é a infecção por adenovírus por inalação. Para isso, foram consideradas as concentrações analisadas nos aerossóis da ETE B.

4.5.2 Avaliação de dose-resposta

Dois modelos de dose-resposta foram utilizados neste trabalho para avaliação de risco à exposição a adenovírus: exponencial e de beta Poisson.

Para o modelo exponencial (Equação 4.1), foi utilizado o modelo apresentado na QMRA Wiki, em que $k = 0,607$ e a unidade da dose deve ser TCID₅₀ (CAMRA, [s.d.]).

$$P_{inf} = 1 - e^{-k \times dose} \quad (4.1)$$

onde:

P_{inf} = probabilidade de infecção

k = parâmetro do modelo de dose-resposta

$dose$ = quantidade de microrganismos da dose de exposição

Para o modelo beta Poisson (Equação 4.2), foram considerados os parâmetros para inalação, $\alpha = 5,24$ e $\beta = 2,95$ (TEUNIS; SCHIJVEN; RUTJES, 2016).

$$P_{inf} = 1 - {}_1F_1(\alpha, \alpha + \beta; -dose) \quad (4.2)$$

onde:

P_{inf} = probabilidade de infecção

${}_1F_1$ = função hipergeométrica confluyente de Kummer

α e β = parâmetros do modelo de dose-resposta

$dose$ = quantidade de microrganismos da dose de exposição

A resolução de uma função hipergeométrica é um desafio computacional (XIE et al., 2017) e Furumoto e Mickey (1967) propuseram a aproximação apresentada na Equação 4.3 (HAAS; ROSE; GERBA, 2014).

$$P_{inf} = 1 - \left(1 + \frac{dose}{\beta}\right)^{-\alpha} \quad (4.3)$$

onde:

P_{inf} = probabilidade de infecção

α e β = parâmetros do modelo de dose-resposta

dose = quantidade de microrganismos da dose de exposição

Contudo, Xie et al. (2017) recomendam que a aproximação (Equação 4.3) seja usada para substituir a Equação 4.2 apenas se $0,02 > \alpha > 2$ e $\beta > (22 \alpha)^{0,50}$. Sendo assim, para α e β propostos por Teunis, Schijven e Rutjes (2016) para rota de inalação, a aproximação não é adequada. Uma solução para a função hipergeométrica confluyente de Kummer é apresentada em Olver et al. (2022) (Equação 4.4).

$$M(a, b, z) = {}_1F_1(a; b; z) = \sum_{s=0}^{\infty} \frac{(a)_s}{(b)_s s!} z^s \quad (4.4)$$

onde $(a)_s$ é o símbolo de Pochhammer (Equação 4.5):

$$(a)_s = a(a+1)(a+2) \dots (a+n-1), \text{ com } (a)_0 = 1 \quad (4.5)$$

4.5.3 Avaliação da exposição

Para a caracterização do risco, a dose de microrganismos inalada por dia foi calculada de acordo com a Equação 4.6.

$$dose = C \times t_{exp} \times \frac{r_{in}}{24 \text{ h/d}} \times f_{conv} \quad (4.6)$$

onde:

dose = quantidade de microrganismos da dose de exposição (TCID₅₀)

C = concentração de adenovírus em (CG/m³)

t_{exp} = tempo de exposição (h)

r_{in} = taxa de inalação (m³/d)

f_{conv} = fator de conversão de CG para TCID₅₀

4.5.3.1 Duração da exposição

Para o cálculo de probabilidade de infecção diária de forma geral na ETE, foi considerada uma exposição de 8 horas, duração comum de uma jornada de trabalho.

Para o cálculo de probabilidade de infecção diária em locais específicos da ETE, foi considerada exposição com distribuição uniforme entre 15 minutos e 1 hora, assumindo a hipótese de que o trabalhador realiza atividades de manutenção no local por períodos de tempo pequenos.

Para o cálculo da probabilidade anual, foi considerado que 1 ano tem 365 dias, sendo que destes, o trabalhador tem 30 dias de férias. Dos 335 dias restantes, 2/7 são folgas semanais, restando então 239 dias de exposição.

4.5.3.2 Taxa de inalação

A taxa de inalação varia de acordo com idade, sexo, peso e tipo de atividade. Nesse trabalho foram considerados os valores de taxa de inalação para exposição de longa duração para adultos (homens e mulheres combinados) recomendados pela US EPA (U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 2011). Os valores médios de taxa de inalação para a faixa etária selecionada para esse trabalho, de 21 a 60 anos, são apresentados na Tabela 4.9. A partir desses valores, optou-se por assumir uma distribuição discreta considerando 25% de probabilidade para cada uma das faixas etárias, ou seja 50% 15,7 m³/dia e 50% 16,0 m³/dia.

Tabela 4.9 – Taxa de inalação de adultos (homens e mulheres) para exposição de longo prazo

Faixa Etária (anos)	Taxa de Inalação Média (m³/dia)
21 a 30	15,7
31 a 40	16,0
41 a 50	16,0
51 a 60	15,7

Fonte: Adaptado de U.S. Environmental Protection Agency (EPA) (2011)

4.5.3.3 Uso de EPI

Para a avaliação de risco realizada neste trabalho considerou-se ausência de EPI. Em futuros trabalhos, pode ser interessante comparar os riscos com e sem o uso de EPIs, como foi realizado por Chen et al. (2021).

4.5.3.4 Harmonização da dose

Uma vez que os resultados da análise de adenovírus são apresentados em CG (cópias de gene) e os modelos de dose-resposta usados necessitam da dose de vírus na unidade TCID₅₀, é necessário utilizar um fator para a harmonização da dose, f_{conv} . Kundu, McBride e Wuertz (2013) usam a equivalência apresentada na Equação 4.7 originada do trabalho de Bambic et al. (2011) interpretando relações entre CG, TCID₅₀ e UFP encontradas na literatura.

$$1 \text{ TCID}_{50} = 700 \text{ CG} \therefore f_{conv} = 1,43 \times 10^{-3} \frac{\text{TCID}_{50}}{\text{CG}} \quad (4.7)$$

4.5.4 **Caracterização do risco**

O cálculo da probabilidade de infecção P_{inf} , com a utilização das Equações 4.1 e 4.2, foi realizado no software Microsoft Excel®. Foram calculadas 10000 iterações para cada cenário, utilizando ferramenta nativa do software para gerar valores aleatórios para as distribuições desejadas. A probabilidade anual de infecção é calculada em função da probabilidade de infecção por meio da Equação 4.8.

$$P_{inf,anual} = 1 - (1 - P_{inf})^n \quad (4.8)$$

onde:

$P_{inf,anual}$ = probabilidade de infecção anual

P_{inf} = probabilidade de infecção por exposição

n = quantidade de dias de exposição em um ano

Para o cálculo da função hipergeométrica do modelo de dose-resposta para adenovírus de Teunis, Schijven e Rutjes (2016), utilizando a solução apresentada na Equação 4.4, foram consideradas 51 sequências da série, ou seja, foi considerado de 0 a 50.

Os resultados de probabilidade de infecção anual para os dois modelos utilizados foram comparados por meio de teste U de Mann-Whitney.

4.5.5 **Comparação com valores toleráveis**

Devido a ausência, até onde se tem conhecimento, de risco tolerável específico para adenovírus, os resultados da caracterização do risco serão comparados com o valor de risco de infecção

tolerável proposto por Wu et al. (2022), de 10^{-3} pppa, e pela US EPA, de 10^{-4} pppa (CHEN et al., 2021).

4.5.6 Análise de sensibilidade

Foram usados valores constantes para todos os parâmetros exceto a taxa de inalação, concentração e a duração de exposição para cálculo do risco em locais específicos. Contudo, como a taxa de inalação variou entre dois valores constantes, a análise da correlação com os resultados foi realizada apenas para os parâmetros de concentração e duração de exposição. A análise foi realizada com o auxílio do método de correlação para postos de Spearman utilizando Real Statistics Resource Pack versão 8.2.1 (ZAIONTZ, 2022) como extensão ao Microsoft Excel®.

4.6 Limitações do Trabalho

É necessário ressaltar que a amostragem realizada, apesar de contribuir para o conhecimento a respeito de aerossóis em ETEs, não pode ser considerada estatisticamente representativa. Para aumentar a representatividade poderiam ser realizadas amostragens com maior frequência durante, pelo menos, um ano inteiro.

Além dessa questão, é muito importante destacar que este trabalho não analisa a viabilidade ou infectividade dos microrganismos. A metodologia de análise microbiológica utilizada permite apenas quantificar o material genético presente nas amostras, o que não indica se o microrganismo está viável e capaz de causar infecção.

Por último, salienta-se que a eficiência de recuperação dos métodos de concentração da fase líquida, eluição das membranas e extração de material genético não foi quantificada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Amostragem de aerossóis

5.1.1 ETE A – Campanha 1

A Tabela 5.1 apresenta os volumes de ar amostrados na ETE A durante a Campanha 1 de amostragem. Por dificuldades técnicas não foi possível realizar a amostragem no gradeamento grosso nos dois primeiros dias de amostragem (19/01/2021 e 20/01/2021). Também não foi possível realizar as amostragens de médio e pequeno volume no dia 22/01/2021.

Com essas amostras foram obtidas 38 amostras de aerossóis, sendo 18 de grande volume (média: $3,70 \times 10^5$ L), 4 de médio volume (média: 5800,5 L) e 16 de pequeno volume (média: 845,8 L).

5.1.2 ETE B – Campanha 2

A Tabela 5.2 apresenta os volumes de ar amostrados na ETE B durante a Campanha 2 de amostragem. No 1º dia de amostragem, 14/03/2022, foi possível realizar apenas duas amostragens, de aproximadamente 3 horas de duração, com amostradores de médio volume. As amostragens realizadas com o amostrador de grande volume teriam duração de 24 horas e só puderam ser iniciadas, devido a dificuldades técnicas, a partir do 2º dia para a amostragem a montante, e do 3º dia para a amostragem a jusante.

Com isso, foram obtidas ao todo 31 amostras de aerossóis na ETE B, sendo 5 de grande volume (média: $1,6 \times 10^6$ L), 18 de médio volume (média: 3373,4 L) e 8 de pequeno volume (média: 714,3 L).

É necessário ressaltar que nos dois primeiros dias de amostragem, ao retirar os cassetes do amostrador de pequeno volume posicionado no canal de afluente de decantadores, notou-se um furo na membrana de gelatina (Figura 5.1). No 3º dia, esse amostrador foi monitorado de hora em hora e o furo apareceu após 5 horas de amostragem. No 4º dia de amostragem, a amostragem ocorreu durante as 6 horas inicialmente previstas sem que a membrana apresentasse furo. Acredita-se que o furo apareceu devido à alta umidade do ambiente amostrado, sendo um canal fechado com alta turbulência de esgoto. A Figura 5.2 apresenta os cassetes com as membranas

de gelatina usados na amostragem dos aerossóis no canal de afluente dos decantadores e na entrada de lodo de retorno e pode-se notar que a membrana se tornou mais transparente no primeiro, provavelmente devido à umidade.

Figura 5.1 – Furo em membrana de gelatina no amostrador posicionado no canal de afluente dos decantadores na ETE B



Figura 5.2 – Diferença de coloração das membranas de gelatina de amostradores posicionados no canal de afluente dos decantadores (1) e na entrada do lodo de retorno (2)



Tabela 5.1 – Volumes amostrados na ETE A, em L

Amostrador	Local	Dia				
		19/01/2021	20/01/2021	21/01/2021	22/01/2021	25/01/2021
AGV ¹	FBP	4,1 x 10 ⁵	4,1 x 10 ⁵	3,4 x 10 ⁵	4,1 x 10 ⁵	4,1 x 10 ⁵
	Gradeamento grosso			3,4 x 10 ⁵	4,3 x 10 ⁵	4,0 x 10 ⁵
	Montante ETE	4,3 x 10 ⁵	4,1 x 10 ⁵	3,4 x 10 ⁵	3,5 x 10 ⁵	4,1 x 10 ⁵
	UASB	4,1 x 10 ⁵	5,9 x 10 ³	3,4 x 10 ⁵	4,0 x 10 ⁵	4,1 x 10 ⁵
AMV ²	Estação elevatória	5850	5850	4914		6588
APV ³	Calha Parshall UASB	887,3	946,9	803,0		1011,6
	Gradeamento grosso	800,0	720,0	580,0		740,0
	Vertedouro 1	860,0	941,7	795,9		831,6
	Vertedouro 2	974,7	925,1	765,7		949,5

¹ Amostrador de grande volume (AGV, Energética®) para partículas totais em suspensão com vazão calibrada de 1130 L/min

² Amostrador de médio volume: bomba de vácuo conectada a aparato acrílico com vazão calibrada de 18 L/min

³ Amostrador de pequeno volume: bomba de amostragem digital Accura-3 (CRIFFER®) com vazão calibrada de 2 L/min

Tabela 5.2 – Volumes amostrados na ETE B, em L

Amostrador	Local	Dia				
		14/03/2022	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022
AGV¹	Jusante ETE ⁴				1,6 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁶
	Montante ETE ⁴			1,6 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁶
AMV²	Elevatória de retorno de lodo ⁵		2905,8	3089,5	3072,8	3122,9
	Elevatória de retorno de lodo ⁶	3841,0	3674,0	3289,9	3941,2	3256,5
	Reator de lodos ativados ⁵		3340,0	3173,0	3139,6	3173,0
	Reator de lodos ativados ⁶	3774,2	3707,4	3373,4	3824,3	3022,7
APV³	Canal de afluyente de decantadores		735,0	735,0	611,8	735,0
	Entrada do lodo de retorno		724,3	724,4	724,4	724,3

¹ Amostrador de grande volume (AGV, Energética®) para partículas inaláveis em suspensão (até 10 µm) com vazão calibrada de 1130 L/min

² Amostrador de médio volume: amostrador N-FRM (ARA Instruments®), com vazão nominal de 16,7 L/min

³ Amostrador de pequeno volume: bomba de amostragem digital Accura-3 (CRIFFER®) com vazão calibrada de 2 L/min

⁴ Amostragens realizadas por 24 horas. A data registrada é a de fim da amostragem.

⁵ Amostragem de aproximadamente 3 horas realizada no período da manhã

⁶ Amostragem de aproximadamente 3 horas realizada no período da tarde

5.1.3 Lições aprendidas

Devido ao caráter exploratório deste trabalho, diferentes equipamentos foram utilizados para as amostragens e, já nas campanhas de amostragem, foi possível perceber algumas questões operacionais não mencionadas na literatura. Os problemas mais consideráveis identificados neste trabalho foram com relação à ligação dos amostradores de grande volume à rede elétrica e à forma de armazenamento das membranas de gelatina utilizadas nos amostradores de médio volume.

A instalação dos amostradores de grande volume envolve sua conexão com a rede elétrica, o que demandou identificação prévia de pontos de energia com tensão elétrica adequada disponíveis. Para os amostradores posicionados a montante da ETE, a ligação com a rede elétrica foi ainda mais trabalhosa, uma vez que esses amostradores ficaram posicionados a uma distância considerável das unidades de tratamento de esgoto. Além disso, recomenda-se, para próximos trabalhos, a utilização de instrumentos de medição de tensão elétrica para evitar danos aos equipamentos.

Quanto ao armazenamento das membranas de gelatina usadas nos amostradores de médio volume N-FRM (ARA Instruments®), foi necessário fragmentar a membrana com pinça e transferir os fragmentos para um tubo de 1,5 mL. O tubo é pequeno e, portanto, os fragmentos precisavam ser pequenos também, sendo necessário muito manuseio das membranas. Além disso, durante a transferência da membrana para o tubo, alguns fragmentos foram carregados pelo vento, diminuindo a quantidade de material coletado. Recomenda-se, para trabalhos futuros, a utilização de tubos maiores ou meios mais adequados para o armazenamento dessas membranas.

A Tabela 5.3 apresenta a comparação entre os amostradores utilizados considerando, principalmente, um ponto de vista operacional. Espera-se que essas informações possam ser utilizadas no planejamento de próximas campanhas de amostragem.

Tabela 5.3 – Comparação entre os amostradores utilizados

Amostrador	Vantagens	Pontos de atenção
AGV	<ul style="list-style-type: none"> Grande volume amostrado 	<ul style="list-style-type: none"> Necessidade de ligação com rede elétrica (atenção à tensão elétrica nas tomadas disponíveis) O transporte deve ser feito por caminhonete ou caminhão, devido ao tamanho Necessidade de ao menos duas pessoas para carregar e posicionar o equipamento Pode ser desafiador posicioná-lo em alguns locais, como na borda do FBP Para colocar e remover os filtros é aconselhável ao menos duas pessoas, em especial em locais e épocas com maior intensidade de vento Atenção no preparo de material para armazenamento das membranas, que são grandes Instalação mais demorada que os outros equipamentos
AMV Amostrador (N-FRM, ARA Instruments®)	<ul style="list-style-type: none"> Instalação simples Bateria recarregável Regulação da altura de amostragem Variedade de membranas utilizáveis 	<ul style="list-style-type: none"> Para evitar perda do equipamento devido a quedas, amarramos o equipamento a grades, e a parte superior, que é removível, ao corpo do equipamento Para colocar e remover os filtros é aconselhável ao menos duas pessoas, em especial em locais e épocas com maior intensidade de vento Atenção à forma de armazenamento da membrana. Neste trabalho, ao transferir fragmentos da membrana de gelatina para tubos Eppendorf, alguns foram carregados pelo vento

Amostrador	Vantagens	Pontos de atenção
APV	<ul style="list-style-type: none">• Portátil• Bateria recarregável• Variedade de membranas utilizáveis• Membranas podem ser mantidas dentro dos cassetes até análise• Facilmente operável por uma única pessoa	<ul style="list-style-type: none">• Pequeno volume amostrado• Necessário amarrar o equipamento a algo para evitar queda• Aconselhável cobrir o equipamento para evitar exposição excessiva ao sol• Para amostragem em alturas específicas, é necessário elaborar algum tipo de suporte

5.2 Parâmetros físico-químicos do esgoto

5.2.1 ETE A – Campanha 1

Os valores médios dos parâmetros físico-químicos do afluente do UASB e do filtro biológico percolador amostrados por dia na ETE A são apresentados nas Tabelas 5.4 e 5.5.

Observou-se que tanto o afluente quanto o efluente do UASB, sendo este o afluente do FBP, apresentaram média de pH dentro da faixa proposta por Chernicharo (2016) como ideal para microrganismos produtores de metano (6,6 a 7,4). Dentre os valores pontuais obtidos a cada coleta, houve 8 medições do afluente do UASB, dentre 29, que apresentaram pH maior que 7,4, mas ainda assim dentro da faixa de estabilidade de funcionamento de reatores UASB, de 6 a 8, de acordo com Chernicharo (2016).

Houve redução no total de sólidos suspensos e total de sólidos suspensos voláteis entre o afluente do UASB e o afluente do FBP, como esperado (CHERNICHARO, 2016).

5.2.2 ETE B – Campanha 2

As Tabelas 5.6, 5.7 e 5.8 apresentam os parâmetros físico-químicos do esgoto bruto (após tratamento preliminar), esgoto do reator de lodos ativados e lodo de retorno coletados na ETE B, respectivamente.

A concentração de sólidos suspensos totais no esgoto bruto variou entre 121,9 mg/L e 207,4 mg/L, sendo que dentre as 4 coletas apenas a última apresentou concentração de sólidos suspensos totais dentro da faixa típica para esgoto doméstico bruto: de 200 a 450 mg/L (VON SPERLING; CHERNICHARO, 2005). O mesmo padrão foi observado para a concentração de sólidos suspensos voláteis, que variou de 96,7 mg/L a 165,5 mg/L sendo que a faixa típica é de 165 a 350 mg/L. Todas as quatro coletas apresentaram esgoto bruto com pH dentro da faixa típica de 6,7 a 8,0 (VON SPERLING; CHERNICHARO, 2005).

Tabela 5.4 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos do afluente do UASB coletado na ETE A

Dia	T (°C)	mmHg	OD (mg/L)	OD (%Sat)	SPC (us/cm)	Cond (us/cm)	SDT (mg/L)	Sal (ppt)	pH	ORP (mV)	SST (mg/L)	SSF (mg/L)	SSV (mg/L)
19/01/2021	27,5	702,2	0,2	3	942	987	611,9	0,46	7,23	4,6	840,7	424,8	415,9
20/01/2021	27,8	702,8	0,2	3	741	780	519,2	0,36	7,20	32,2	675,6	285,1	390,4
21/01/2021	27,7	703,4	0,3	4	926	975	601,3	0,45	7,33	31,0	763,8	371,3	392,5
22/01/2021	27,7	705,5	0,2	3	966	1017	627,3	0,47	7,40	9,4	996,4	405,8	590,6
25/01/2021	28,0	703,0	0,6	9	990	1047	642,6	0,49	7,40	-7,5	1024,4	446,8	577,6

T = Temperatura, OD = Oxigênio Dissolvido, SPC = Condutância Específica, Cond = Condutividade, SDT = Sólidos Dissolvidos Totais, Sal = Salinidade, ORP = Potencial de Oxirredução, SST = Sólidos Suspensos Totais, SSF = Sólidos Suspensos Fixos, SSV = Sólidos Suspensos Voláteis

Tabela 5.5 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos do afluente do Filtro Biológico Percolador coletado na ETE A

Dia	T (°C)	mmHg	OD (mg/L)	OD (%Sat)	SPC (us/cm)	Cond (us/cm)	SDT (mg/L)	Sal (ppt)	pH	ORP (mV)	SST (mg/L)	SSF (mg/L)	SSV (mg/L)
19/01/2021	27,8	702,3	0,2	3	941	906	612,9	0,46	6,94	-105,8	613,8	333,7	280,0
20/01/2021	27,6	702,7	0,2	3	931	997	617,5	0,46	6,96	-138,2	599,6	311,2	288,4
21/01/2021	27,6	703,5	0,2	3	935	981	609,4	0,46	6,94	-143,9	578,8	343,8	235,0
22/01/2021	27,6	705,8	0,2	3	846	887	550,9	0,41	6,95	-125,6	547,2	291,3	256,0
25/01/2021	27,8	703,0	0,8	11	896	943	582,2	0,44	6,91	-150,9	664,2	331,7	332,5

T = Temperatura, OD = Oxigênio Dissolvido, SPC = Condutância Específica, Cond = Condutividade, SDT = Sólidos Dissolvidos Totais, Sal = Salinidade, ORP = Potencial de Oxirredução, SST = Sólidos Suspensos Totais, SSF = Sólidos Suspensos Fixos, SSV = Sólidos Suspensos Voláteis

Tabela 5.6 – Parâmetros físico-químicos do esgoto bruto coletado na ETE B

Data	T (°C)	OD (mg/L)	OD (%sat)	pH	SST (mg/L)	SSF (mg/L)	SSV (mg/L)
15/03/2022	31,8	0,33	4,8	7,13	121,9	25,2	96,7
16/03/2022	32,1	0,26	4,0	7,09	170,5	26,1	144,4
17/03/2022	30,8	0,77	10,8	7,22	160,6	29,4	131,1
18/03/2022	33,1	0,25	3,7	7,13	207,4	41,9	165,5

T = Temperatura, OD = Oxigênio Dissolvido, SST = Sólidos Suspensos Totais, SSF = Sólidos Suspensos Fixos, SSV = Sólidos Suspensos Voláteis

Tabela 5.7 – Parâmetros físico-químicos do esgoto do reator de lodos ativados coletado na ETE B

Data	T (°C)	OD (mg/L)	OD (%sat)	pH	SST (mg/L)	SSF (mg/L)	SSV (mg/L)
15/03/2022	31,5	0,41	5,8	6,97	1686,2	214,9	1471,3
16/03/2022	31,9	0,18	2,5	7,25	2105,1	246,8	1858,2
17/03/2022	30,4	0,56	7,7	7,20	1710,3	222,1	1488,2
18/03/2022	32,5	0,65	9,2	7,21	1651,1	211,8	1439,4

T = Temperatura, OD = Oxigênio Dissolvido, SST = Sólidos Suspensos Totais, SSF = Sólidos Suspensos Fixos, SSV = Sólidos Suspensos Voláteis

Tabela 5.8 – Parâmetros físico-químicos do lodo de retorno coletado na ETE B

Data	T (°C)	OD (mg/L)	OD (%sat)	pH	ST (mg/L)	SFT (mg/L)	SVT (mg/L)
15/03/2022	31,9	0,30	4,4	7,17	3713,1	821,6	2891,5
16/03/2022	31,9	0,22	3,2	7,27	3767,9	813,4	2954,4
17/03/2022	31,0	0,53	7,3	7,08	3594,3	775,2	2819,0
18/03/2022	32,5	0,27	3,9	7,21	3894,6	816,6	3078,0

T = Temperatura, OD = Oxigênio Dissolvido, ST = Sólidos Totais, SFT = Sólidos Fixos Totais, SVT = Sólidos Voláteis Totais

5.3 Detecção de microrganismos no esgoto

Nas seções a seguir serão apresentadas as concentrações detectadas de microrganismos no esgoto e lodo da ETE B. É importante ressaltar que a metodologia utilizada quantifica a presença de material genético dos microrganismos e, portanto, não se pode extrair desses resultados a concentração de microrganismos viáveis e capazes de causar infecção. Contudo, esses resultados contribuem para o conhecimento acerca de microrganismos que podem estar presentes de forma viável no esgoto e lodo de ETEs e, assim, é possível direcionar esforços para estudos mais aprofundados.

5.3.1 Adenovírus

Na ETE B, adenovírus foi detectado em todas as amostras de lodo de retorno e esgoto. As concentrações de adenovírus por local e por dia na ETE B são apresentadas na Tabela 5.9. A concentração média de adenovírus no esgoto bruto foi de $9,9 \times 10^5$ CG/L, no esgoto do reator de lodos ativados foi de $3,8 \times 10^5$ CG/L e no lodo de retorno foi de $1,9 \times 10^3$ CG/g. De acordo com Momba et al. (2019), a literatura mostra que aproximadamente 10^5 - 10^9 CG/L de adenovírus humano têm sido detectados em esgoto bruto. Estudos analisados por Allard e Vantarakis (2019) apresentam concentrações de adenovírus em esgoto bruto entre $3,8 \times 10^{-1}$ e $3,3 \times 10^9$ CG/L. Sendo assim, a concentração encontrada para esgoto bruto está compatível com a literatura existente.

Tabela 5.9 – Concentração de adenovírus em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia

Local	Dia				Unidade
	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022	
Esgoto Bruto	$2,9 \times 10^4$	$9,6 \times 10^5$	$1,4 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$	CG/L
Lodos Ativados	$6,8 \times 10^4$	$1,4 \times 10^6$	$3,6 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	CG/L
Lodo de Retorno	$1,4 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$2,6 \times 10^2$	$4,4 \times 10^3$	CG/g

As Figuras 5.3 e 5.4 apresentam gráficos box-whisker das concentrações encontradas para adenovírus na ETE B. Apesar da análise visual do gráfico da Figura 5.3 sugerir que a

concentração de adenovírus no esgoto bruto é maior que no esgoto dos lodos ativados, as medianas não diferem significativamente (U de Mann-Whitney = 5, $n_1 = n_2 = 4$, $p = 0,470$).

Figura 5.3 – Box-whisker da concentração de adenovírus no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B

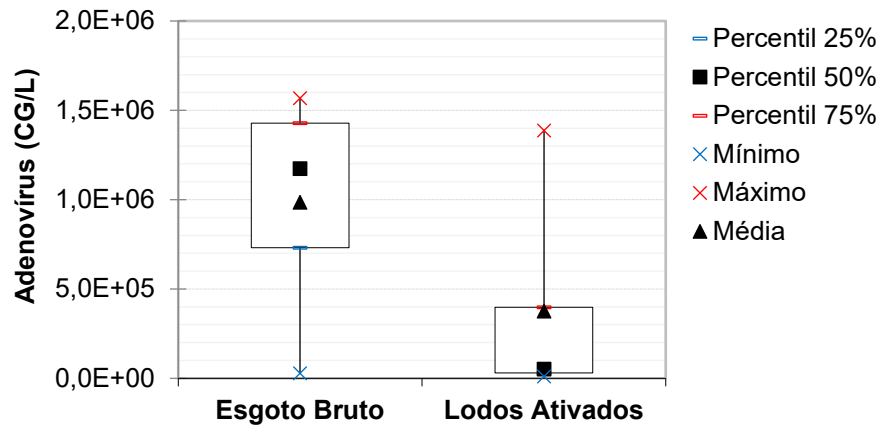
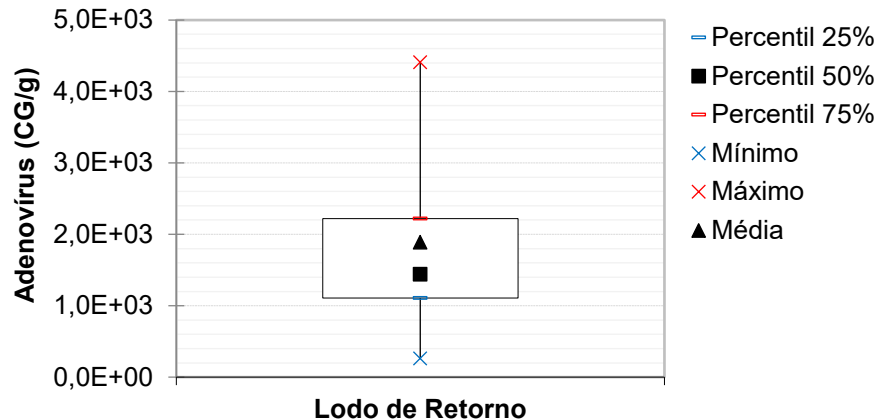


Figura 5.4 – Box-whisker da concentração de adenovírus no lodo de retorno na ETE B



5.3.2 Bactérias 16S

A concentração de bactérias 16S detectadas nas amostras de esgoto bruto, esgoto do reator de lodos ativados e lodo de retorno da ETE B são apresentadas na Tabela 5.10. A concentração média de bactérias no esgoto bruto foi de $3,8 \times 10^8$ CG/L, no esgoto do reator de lodos ativados foi de $2,5 \times 10^9$ CG/L e no lodo de retorno foi de $3,6 \times 10^7$ CG/g.

As Figuras 5.5 e 5.6 apresentam os valores centrais e a dispersão dos dados das concentrações por meio de gráficos. Notou-se que as concentrações obtidas nas amostras de esgoto do reator de lodos ativados foram maiores que as do esgoto bruto e confirmou-se, por teste de Mann-Whitney, que as medianas dos dois grupos de amostras diferem significativamente (U de Mann-Whitney = 0, $n_1 = n_2 = 4$, $p = 0,030$).

Da literatura analisada, não foi identificada nenhuma que quantificasse, utilizando qPCR, a concentração de bactérias 16S no esgoto. Han et al. (2020a), por meio de métodos de cultura, encontrou concentrações de cerca de 10^{10} UFC/L bactérias no esgoto.

Tabela 5.10 – Concentração de bactérias 16S em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia

Local	Dia				Unidade
	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022	
Esgoto Bruto	$3,4 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	CG/L
Lodos Ativados	$3,8 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$	$2,6 \times 10^9$	CG/L
Lodo de Retorno	$7,8 \times 10^7$	$4,9 \times 10^6$	$1,6 \times 10^7$	$4,7 \times 10^7$	CG/g

Figura 5.5 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B

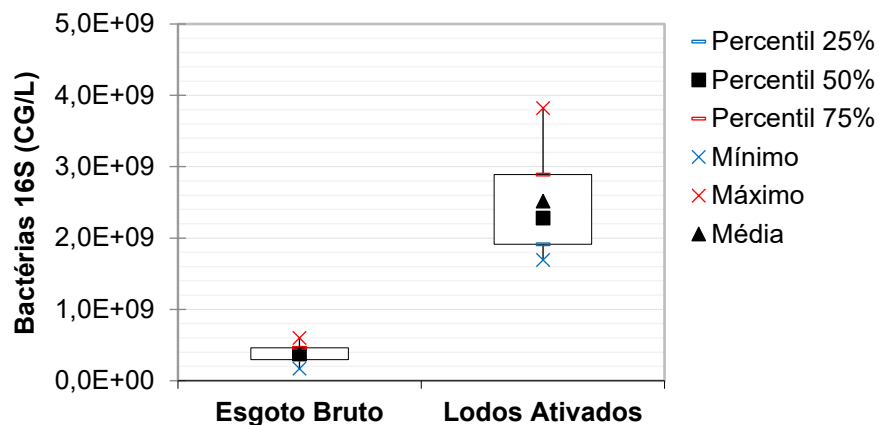
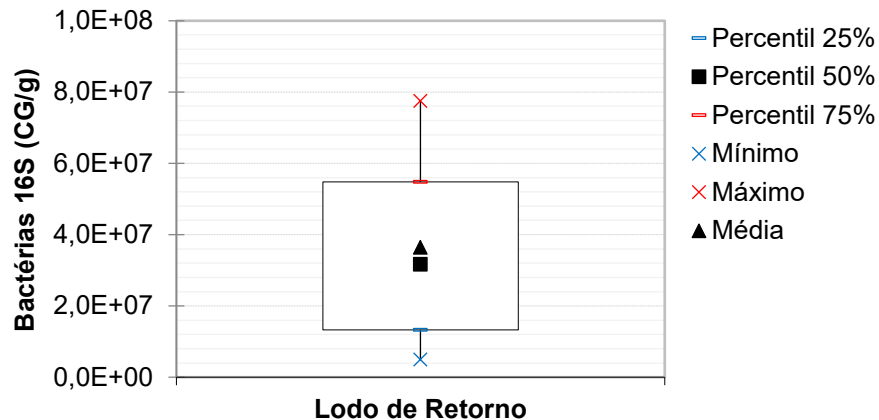


Figura 5.6 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S no lodo de retorno na ETE B



5.3.3 *Haemophilus influenzae*

A *Haemophilus influenzae* foi detectada em todas as amostras de lodo de retorno e em nenhuma de esgoto na ETE B. As concentrações de *H. influenzae* por local e por dia são apresentadas na Tabela 5.11. A concentração média no lodo de retorno foi de 5,4 CG/g. A Figura 5.7 apresenta gráfico box-whisker das concentrações encontradas no lodo de retorno.

A análise dos microrganismos nos lodos de retorno, além de ser importante no contexto de análise de aerossóis por ser uma matriz geradora, é importante para que sejam tratados os possíveis riscos na destinação final do lodo.

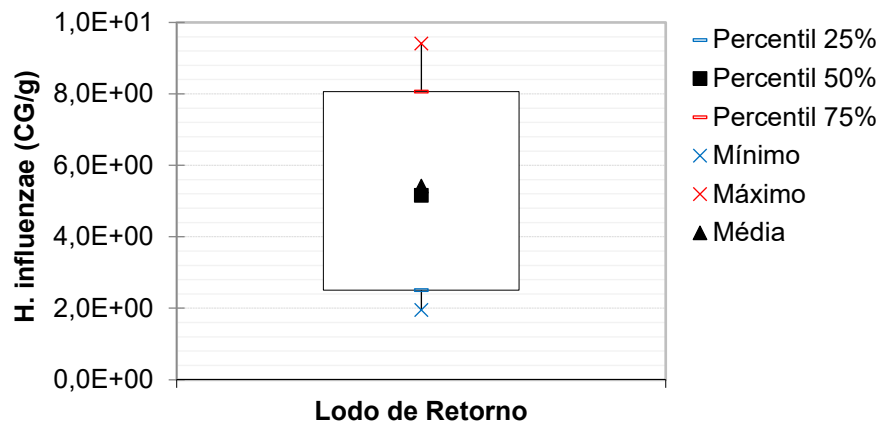
Da literatura analisada, não foi identificada nenhuma que quantificasse a concentração de *H. influenzae* no esgoto ou lodo. Jałowicki et al. (2022), com o uso de sequenciamento, analisaram a abundância relativa de diversas bactérias resistentes a antibióticos em esgoto e, dentre as analisadas, detectaram *H. influenzae*.

Tabela 5.11 – Concentração de *H. influenzae* em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia

Local	Dia				Unidade
	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022	
Esgoto Bruto	ND	ND	ND	ND	CG/L
Lodos Ativados	ND	ND	ND	ND	CG/L
Lodo de Retorno	9,41	1,95	2,70	7,62	CG/g

ND: Não detectado

Figura 5.7 – Box-whisker da concentração de *H. influenzae* no lodo de retorno na ETE B



5.3.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa foi detectada em 11 de 12 amostras de esgoto e lodo coletadas na ETE B (92%). A concentração de *P. aeruginosa* detectada nas amostras de esgoto bruto, esgoto no reator de lodos ativados e lodo de retorno da ETE B são apresentadas na Tabela 5.12. Na amostra de esgoto do reator de lodos ativados do dia 18 de março de 2022 não foi detectada a bactéria. A não detecção pode ser justificada tanto pela ausência ou baixa concentração do microrganismo na amostra quanto por interferências de outros compostos. Como mencionado na seção 4.4.1, as concentrações não detectadas serão consideradas como 0 para fins da análise estatística dos dados.

Na ETE B, a concentração média de *P. aeruginosa* no esgoto bruto foi de $1,0 \times 10^4$ CG/L, no esgoto do reator de lodos ativados foi de $1,0 \times 10^3$ CG/L e no lodo de retorno foi de $2,4 \times 10^1$ CG/g.

As Figuras 5.8 e 5.9 apresentam os valores centrais e a dispersão dos dados das concentrações com o auxílio de gráficos. Notou-se que as concentrações obtidas nas amostras de esgoto bruto foram maiores que as do esgoto do reator de lodos ativados e confirmou-se, por meio de teste de Mann-Whitney, que as medianas dos dois grupos de amostras diferem significativamente (U de Mann-Whitney = 0, $n_1 = n_2 = 4$, $p = 0,030$).

Tabela 5.12 – Concentração de *P. aeruginosa* em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia

Local	Dia				Unidade
	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022	
Esgoto Bruto	$5,2 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	CG/L
Lodos Ativados	$1,2 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	ND	CG/L
Lodo de Retorno	$4,9 \times 10^1$	$1,6 \times 10^1$	9,4	$2,3 \times 10^1$	CG/g

ND: Não detectado

Figura 5.8 – Box-whisker da concentração de *P. aeruginosa* no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B

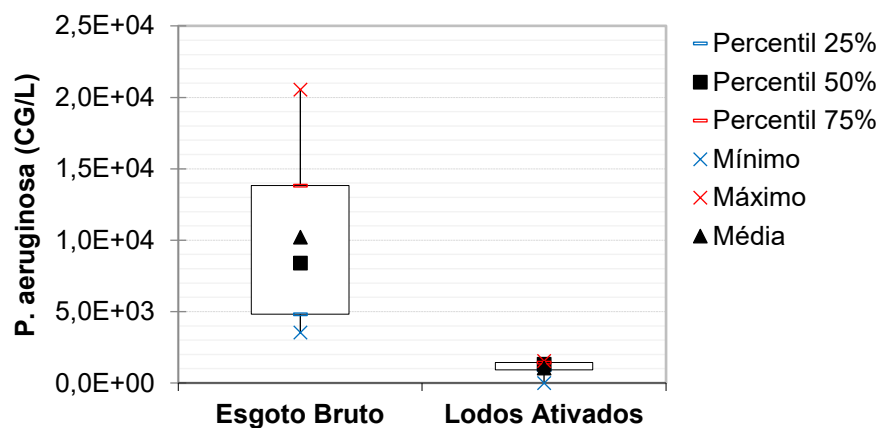
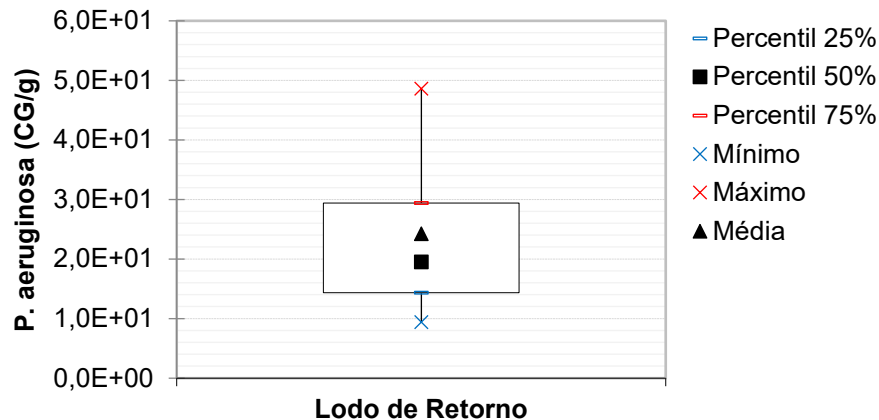


Figura 5.9 – Box-whisker da concentração de *P. aeruginosa* no lodo de retorno na ETE B



Utilizando cultivo, Han et al. (2020a) encontraram *P. aeruginosa* em concentrações de cerca de 10^6 UFC/L. Considerando que a análise por qPCR pode quantificar DNA de microrganismos não viáveis e não cultiváveis, as concentrações encontradas para ambas as ETES foram menores que as de Han et al. (2020a).

5.3.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus foi detectada em 7 de 12 amostras de esgoto e lodo da ETE B (58%). Como mencionado na seção 4.4.1, as concentrações não detectadas serão consideradas como 0 para fins da análise estatística dos dados. A não detecção pode ser justificada tanto pela ausência ou baixa concentração do microrganismo na amostra quanto por interferências de outros compostos. A concentração de *S. aureus* detectada nas amostras de esgoto bruto, esgoto no reator de lodos ativados e lodo de retorno são apresentadas na Tabela 5.13.

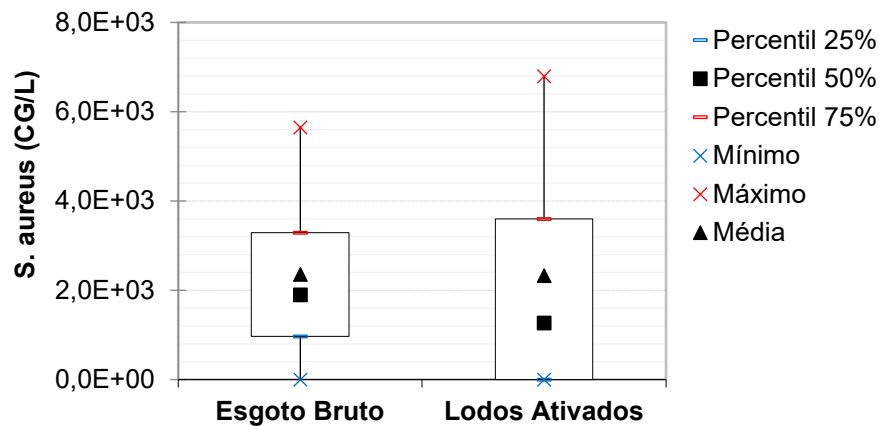
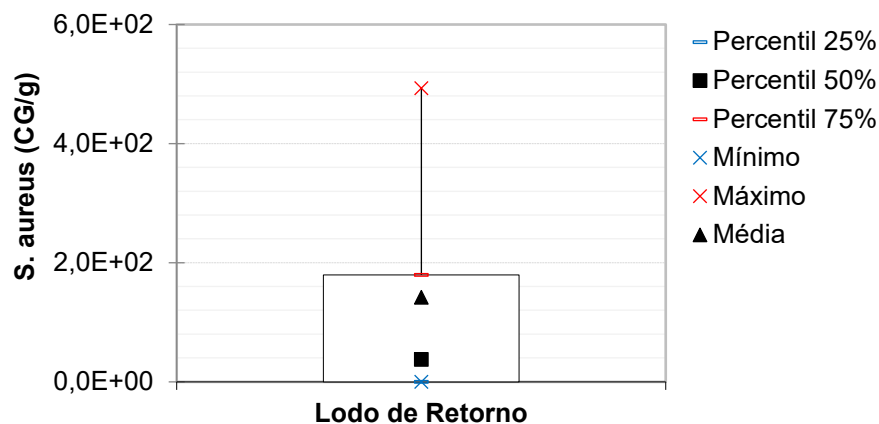
Na ETE B, a concentração média de bactérias no esgoto bruto foi de $2,4 \times 10^3$ CG/L, no esgoto do reator de lodos ativados foi de $2,3 \times 10^3$ CG/L e no lodo de retorno foi de $1,4 \times 10^2$ CG/g.

As Figuras 5.10 e 5.11 apresentam os valores centrais e a dispersão dos dados das concentrações por meio de gráficos. Um teste de Mann-Whitney entre concentrações no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados indica que não há diferença significativa entre os dois grupos (U de Mann-Whitney = 8, $n_1 = n_2 = 4$, $p = 0,882$).

Tabela 5.13 – Concentração de *S. aureus* em amostras de esgoto e lodo da ETE B por dia

Local	Dia				Unidade
	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022	
Esgoto Bruto	ND	$2,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$5,7 \times 10^3$	CG/L
Lodos Ativados	$6,8 \times 10^3$	ND	ND	$2,5 \times 10^3$	CG/L
Lodo de Retorno	ND	ND	$7,5 \times 10^1$	$4,9 \times 10^2$	CG/g

ND: Não detectado

Figura 5.10 – Box-whisker da concentração de *S. aureus* no esgoto bruto e no esgoto do reator de lodos ativados na ETE B**Figura 5.11** – Box-whisker da concentração de *S. aureus* no lodo de retorno na ETE B

Utilizando cultivo, Han et al. (2020a) encontraram *S. aureus* em concentrações de cerca de 10^7 UFC/L. Considerando que a análise por qPCR pode quantificar DNA de microrganismos não viáveis e não cultiváveis, as concentrações encontradas para ambas as ETEs foram menores que as de Han et al. (2020a).

5.3.6 Relação entre bactérias 16S, *H. influenzae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* na ETE B

Comparando as concentrações detectadas para as bactérias específicas analisadas e para bactérias 16S, pode-se estimar a fração que as primeiras representam dentro do segundo grupo. No esgoto bruto da ETE B, *P. aeruginosa* representou uma média de 0,002% das bactérias 16S enquanto *S. aureus*, uma média de 0,001%, que é menor que a média de *P. aeruginosa* (Figura 5.12). Por outro lado, no esgoto do reator de lodos ativados, a concentração *P. aeruginosa* representou 0,00005% das bactérias 16S enquanto *S. aureus*, 0,00007% (Figura 5.13). É possível perceber que ambas as bactérias tiveram menor participação na população de bactérias 16S no esgoto do reator de lodos ativados que no esgoto bruto. Isso provavelmente se deve à presença de bactérias que atuam no tratamento do esgoto.

O mesmo ocorreu para a fração dessas bactérias no lodo de retorno, porém com redução menos expressiva: fração média de *P. aeruginosa* igual a 0,0001% e fração média de *S. aureus* igual a 0,0004%. A presença de *H. influenzae* foi detectada apenas no lodo de retorno e representa uma fração média de 0,00002% (Figura 5.14).

Figura 5.12 – Fração de *P. aeruginosa* e *S. aureus* em relação a bactérias 16S no esgoto bruto da ETE B

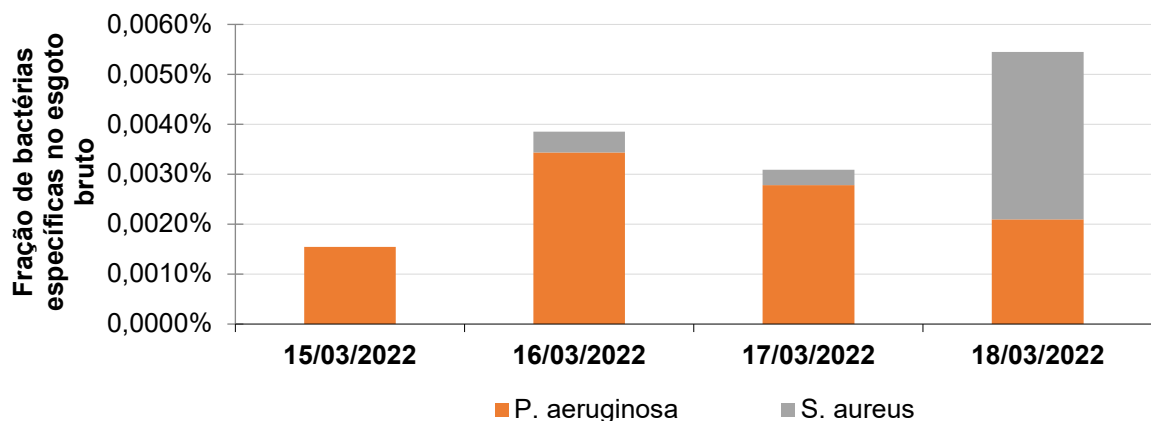


Figura 5.13 – Fração de *P. aeruginosa* e *S. aureus* em relação a bactérias 16S no esgoto do reator de lodos ativados da ETE B

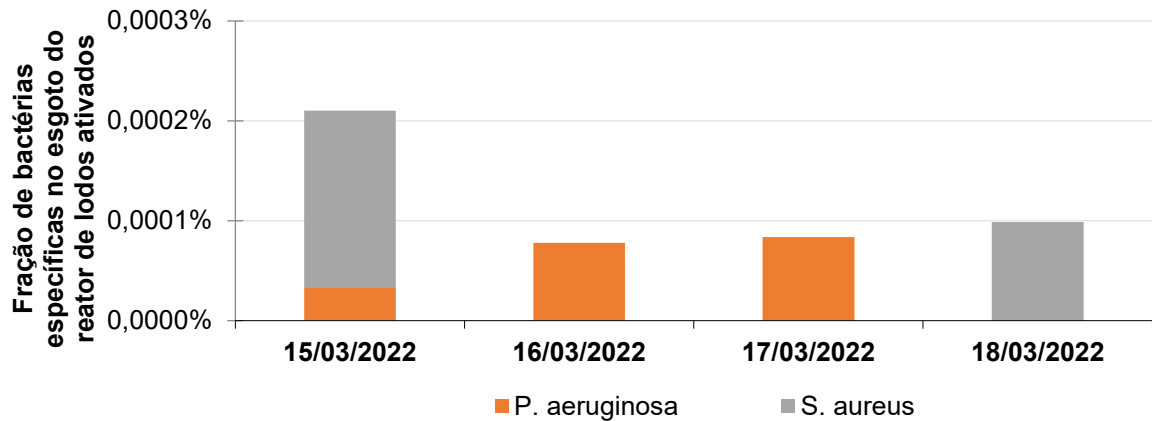
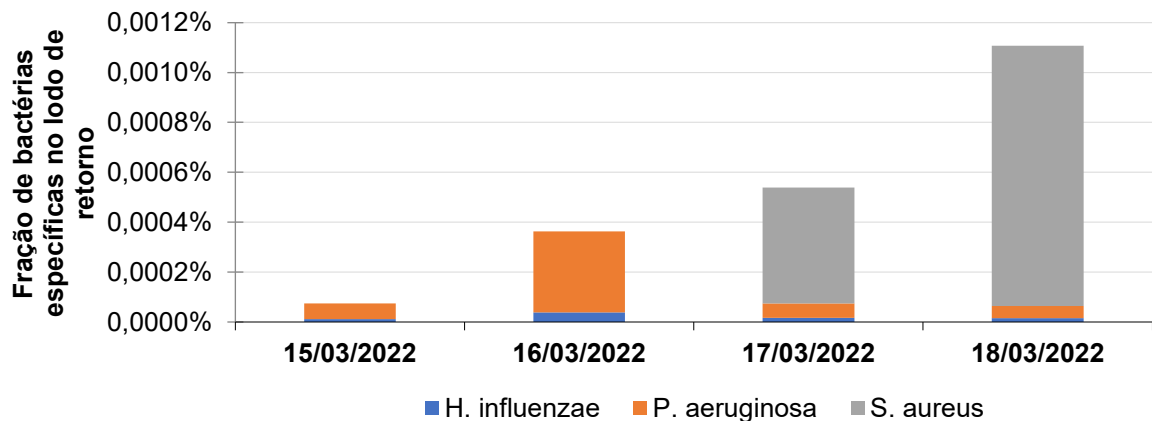


Figura 5.14 – Fração de *H. influenzae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* em relação a bactérias 16S no lodo de retorno da ETE B



5.4 Detecção de microrganismos em aerossóis

Nas seções a seguir serão apresentadas as concentrações detectadas de microrganismos nos aerossóis das ETEs. É importante ressaltar que a metodologia utilizada quantifica a presença de material genético dos microrganismos e, portanto, não se pode extrair desses resultados a concentração de microrganismos viáveis e capazes de causar infecção. Contudo, esses resultados contribuem para o conhecimento acerca de microrganismos que podem estar presentes de forma viável nos aerossóis de ETEs e, assim, é possível direcionar esforços para estudos mais aprofundados.

5.4.1 SARS-CoV-2

Foi realizada análise RT-qPCR para todas as amostras de aerossóis da ETE A, mas não foi detectado o vírus em nenhuma delas.

Analisando dados de projeto local de monitoramento do SARS-CoV-2 no esgoto, sabe-se que o vírus estava presente no esgoto da região na época de coleta das amostras. Entretanto, de acordo com esse boletim local, na 3ª semana de janeiro de 2021, época da Campanha 1, apesar da carga viral no esgoto ainda ser alta, aproximadamente 15 trilhões de cópias de RNA por dia, ela representava metade do que foi encontrado no final de 2020 e nas duas primeiras semanas de janeiro de 2021. Isso pode ser justificado pela suspensão de atividades não essenciais imposta a partir de 11 de janeiro de 2021 na região.

Além da presença confirmada de SARS-CoV-2 no esgoto, o vírus já foi detectado nos aerossóis de ETEs por Gholipour et al. (2021) e Pourakbar et al. (2022), sendo que os primeiros detectaram o vírus em concentrações de 5 a 188 CG/L, em 6 de 15 amostras. Nestes trabalhos em que houve detecção, a amostragem de aerossóis foi realizada com a utilização de impingers, metodologia indicada para amostragens de vírus uma vez que permite manter melhor a integridade dos vírus se comparada a outras metodologias. Por outro lado, Passos, Silveira e Abrahão (2021), analisando a presença de SARS-CoV-2 em hospitais e áreas públicas abertas, utilizaram filtração em filtros de celulose e de quartzo e conseguiram identificar a presença de SARS-CoV-2 em instalações de saúde em concentrações de 0,14, 0,19 e 0,33 CG/m³, em 3 de 43 amostras. É provável que os amostradores de grande volume possam dificultar a extração do material genético do vírus devido a seu alto fluxo, efeitos de dessecação, alto impacto e alta concentração de contaminantes no ar (PASSOS; SILVEIRA; ABRAHÃO, 2021). Além disso, a estabilidade do SARS-CoV-2 em aerossóis ainda é assunto de estudo. Van Doremalen et al. (2020) concluíram, sob circunstâncias experimentais, que ele tem estabilidade similar ao SARS-CoV-1 e se mantém viável e infeccioso em aerossóis por horas e em superfícies por dias (VAN DOREMALEN et al., 2020). Contudo, é necessário reforçar que não se conhece a viabilidade do SARS-CoV-2 no esgoto.

Ademais, considerando que a concentração desses vírus no ar pode ser muito baixa, possíveis perdas de material devido ao manuseio das membranas ou à eficiência de recuperação dos métodos utilizados podem ocasionar a não-deteção.

5.4.2 Adenovírus

O adenovírus foi detectado em 4 de 38 amostras de aerossóis na ETE A (11%) e em 7 de 31 amostras de aerossóis na ETE B (23%). A não detecção pode ser justificada tanto pela ausência ou baixa concentração do microrganismo na amostra quanto por interferências de outros compostos. Como mencionado na seção 4.4.1, as concentrações não detectadas serão consideradas como 0 para fins da análise estatística dos dados.

Na ETE A, em nenhuma das 5 amostras de aerossóis a montante da ETE foi detectado adenovírus. Na ETE B, dentre 3 amostras a montante, em 1 houve detecção de adenovírus na concentração de $1,5 \times 10^{-4}$ CG/L, sendo que essa concentração é menor que as concentrações detectadas nos pontos dentro da ETE B em que houve detecção (mínimo = $3,0 \times 10^{-4}$ CG/L e máximo = $7,4 \times 10^{-3}$ CG/L). Assim, pode-se sugerir que os aerossóis produzidos na ETE contribuem para dispersão de patógenos no ar. As concentrações de adenovírus nos aerossóis das ETEs A e B são apresentadas nas Tabelas 5.14 e 5.15, respectivamente.

Carducci et al. (2016) detectaram concentrações de adenovírus na ordem de 10^{-3} CG/L em locais que consideraram com grande potencial de geração de aerossóis em ETEs. As concentrações detectadas neste trabalho variam na ordem de 10^{-2} e 10^{-5} CG/L na ETE A e 10^{-4} e 10^{-3} CG/L na ETE B. As concentrações encontradas na ETE B são próximas do detectado por Carducci et al. (2016). Por outro lado, Masclaux et al. (2014) chegaram a detectar até $2,27 \times 10^3$ CG/L de adenovírus tipo F, o que seria uma concentração 10^5 a 10^8 vezes maior que as encontradas neste trabalho.

Tabela 5.14 – Concentrações de adenovírus nos aerossóis amostrados por dia na ETE A (CG/L)

Local	Dia				
	19/01/2021	20/01/2021	21/01/2021	22/01/2021	25/01/2021
Montante	ND	ND	ND	ND	ND
Estação elevatória	ND	ND	ND		ND
Gradeamento grosso - AGV			ND	$3,6 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-5}$
Gradeamento grosso - APV	ND	ND	ND		ND
Vertedouro entre desarenadores e UASB	ND	ND	ND		ND
	ND	ND	ND		ND
UASB	ND	ND	ND	ND	ND
Calha Parshall UASB	ND	$1,1 \times 10^{-2}$	ND		ND
FBP	ND	ND	$1,3 \times 10^{-5}$	ND	ND

ND = Não detectado

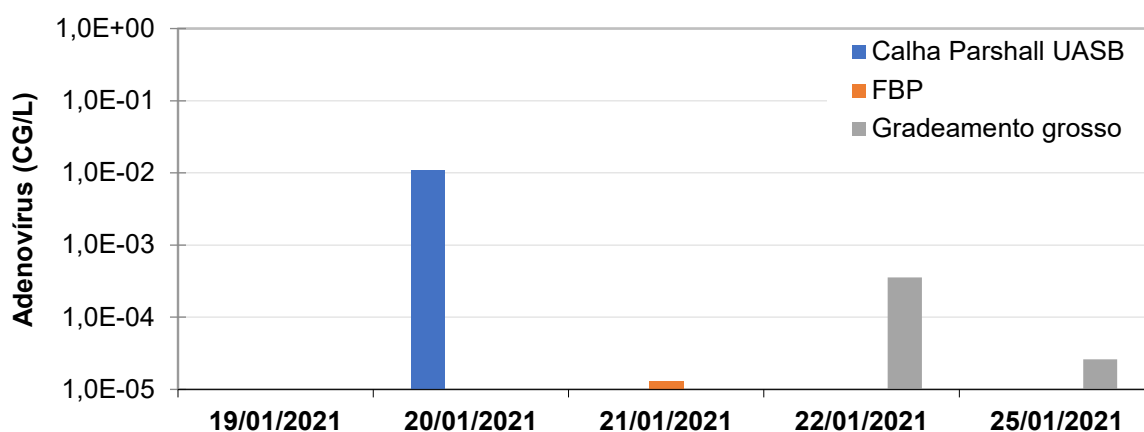
A Figura 5.15 apresenta as concentrações de adenovírus detectadas por dia e por local na ETE A. Pode ser observado que a maior concentração foi detectada na calha Parshall do efluente do UASB no 2º dia de amostragem. Isso pode ser justificado pela grande turbulência neste local e consequente formação de gotículas, mas também por alguma possível diferença no posicionamento do filtro no dia, uma vez que em nenhuma das outras amostragens houve detecção.

Dentre 3 amostras coletadas por amostrador de grande volume no gradeamento grosso da ETE A, em 2 foi detectado adenovírus. Pode ser sugerido que as detecções nesta fase do tratamento se justificam pela grande turbulência e também pela presença de material particulado ainda não removido, uma vez que adenovírus têm afinidade com sólidos (ESPINOSA et al., 2022).

Tabela 5.15 – Concentrações de adenovírus nos aerossóis amostrados por dia na ETE B (CG/L)

Local	Dia				
	14/03/2022	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022
Jusante				$8,9 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-3}$
Montante			ND	ND	$1,5 \times 10^{-4}$
Elevatória de retorno de lodo - manhã		ND	ND	ND	ND
Elevatória de retorno de lodo - tarde	ND	ND	$3,0 \times 10^{-4}$	ND	ND
Reator de lodos ativados - manhã		ND	ND	ND	ND
Reator de lodos ativados - tarde	ND	ND	$5,5 \times 10^{-4}$	ND	ND
Canal de afluente de decantadores		$3,2 \times 10^{-3}$	$7,4 \times 10^{-3}$	ND	ND
Entrada do lodo de retorno		ND	ND	ND	ND

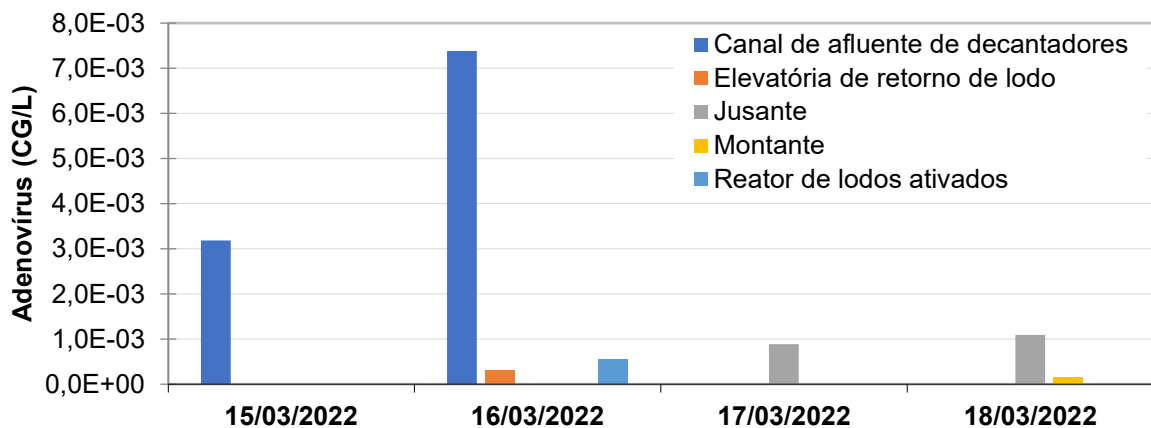
ND = Não detectado

Figura 5.15 – Detecção de adenovírus em aerossóis na ETE A por dia e por local

A Figura 5.16 apresenta de forma gráfica as concentrações de adenovírus detectadas por dia e por local na ETE B. Pode ser observado que as maiores concentrações foram identificadas nas amostras do canal de afluente dos decantadores primários nos dois primeiros dias de amostragem. Para evitar uma leitura errônea do gráfico, é importante ressaltar que as amostras coletadas a jusante da ETE tiveram detecção de 100% (2 em 2), portanto a ausência de detecção nos outros dias é devido à ausência de coleta nesse ponto.

Como mencionado na seção 5.1.2, nesses dois primeiros dias de amostragem na ETE B, a membrana de gelatina estava furada no momento em que os cassetes foram coletados. Talvez nesses dias tenha havido uma maior turbulência, levando à coleta de grandes gotículas, o que ocasionaria à dissolução de parte da membrana e também às grandes concentrações de vírus. Contudo, uma vez que o canal é fechado, não foi possível observar a turbulência do esgoto. De qualquer forma, a detecção de grande concentração de adenovírus nesses aerossóis ressalta a importância da cobertura do canal. Por outro lado, talvez exatamente devido à cobertura e consequente redução da dispersão dos aerossóis por correntes de ar, os resultados para as amostragens nesse local foram maiores.

Figura 5.16 – Detecção de adenovírus em aerossóis na ETE B por dia e por local



5.4.3 Bactérias 16S

Foram detectadas bactérias 16S em 24 de 31 amostras de aerossóis na ETE B (77%). As concentrações encontradas são apresentadas na Tabela 5.16. As concentrações detectadas

variaram de $1,1 \times 10^{-3}$ CG/L na elevatória de retorno de lodo a 9,7 CG/L na entrada do lodo de retorno.

Da literatura analisada, não foi identificada nenhuma que quantificasse por qPCR a concentração de bactérias 16S nos aerossóis de ETEs. Por outro lado, alguns estudos, por meio de cultivo, apresentam concentrações de bactérias cultiváveis totais em aerossóis variando da ordem de 10^{-2} a 10^1 UFC/L (HAN et al., 2019; KOWALSKI et al., 2017; NIAZI et al., 2015; SZULC et al., 2021; YANG et al., 2019a). Considerando que não são todas as bactérias 16S que são cultiváveis e que a análise por qPCR pode quantificar DNA de microrganismos não viáveis e não cultiváveis, as concentrações encontradas parecem menores que as existentes na literatura. Para melhorar a comparação, seria necessário utilizar métodos com cultivo.

A Figura 5.17 apresenta a distribuição das concentrações por local amostrado. Pode-se observar que as concentrações de bactérias 16S a montante e jusante da ETE e na entrada do lodo de retorno foram em geral maiores que as concentrações nos outros três locais amostrados. Por meio de teste de Kruskal-Wallis concluiu-se que existe diferença significativa entre as concentrações dos diferentes locais amostrados ($p = 0,002$). Ao realizar o teste de Dunn entre cada par de grupos de amostras, chegou-se à conclusão de que só existe diferença significativa entre as concentrações da entrada do lodo de retorno e da elevatória de lodo de retorno (Tabela 5.17).

Observou-se também que, com exceção das amostras de jusante e da entrada do lodo de retorno, as concentrações obtidas nas amostras de montante da ETE foram maiores que as outras. A Figura 5.18 compara a distribuição das concentrações de bactérias 16S amostradas a montante da ETE e nos pontos dentro da ETE. Pode-se observar que as concentrações a montante (média = $1,7 \times 10^{-1}$ CG/L, mediana = $6,1 \times 10^{-2}$ CG/L) são maiores que o percentil de 75% das amostras da ETE, $5,7 \times 10^{-3}$ CG/L. E apesar de a média das concentrações das amostras na ETE, $3,7 \times 10^{-1}$ CG/L, ser maior que a média a montante, com o auxílio de um teste de Mann-Whitney unidirecional pode-se concluir que a mediana das concentrações a montante é maior que a concentração na ETE ($Z = 2,25$, $n_1 = 3$, $n_2 = 28$, $p = 0,012$). Isso talvez possa ser justificado pelas diferentes metodologias para coleta e tratamento das membranas utilizadas, uma vez que as amostras a montante foram coletadas em filtros de quartzo com amostradores de grande volume

enquanto as demais, com exceção das de jusante, foram coletadas em membranas de gelatina com amostradores de médio e pequeno volumes.

Tabela 5.16 – Concentrações de bactérias 16S nos aerossóis amostrados por dia na ETE B (CG/L)

Local	Dia				
	14/03/2022	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022
Jusante				$2,1 \times 10^{-1}$	$2,0 \times 10^{-1}$
Montante			$4,3 \times 10^{-1}$	$6,1 \times 10^{-2}$	$2,4 \times 10^{-2}$
Elevatória de retorno de lodo - manhã		ND	$2,3 \times 10^{-3}$	$1,1 \times 10^{-3}$	ND
Elevatória de retorno de lodo - tarde	$2,0 \times 10^{-3}$	ND	$2,0 \times 10^{-3}$	$2,9 \times 10^{-3}$	ND
Reator de lodos ativados - manhã		$1,8 \times 10^{-3}$	$2,5 \times 10^{-3}$	$1,4 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-3}$
Reator de lodos ativados - tarde	$1,2 \times 10^{-3}$	ND	$5,3 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-3}$	$3,5 \times 10^{-3}$
Canal de afluentes de decantadores		ND	$4,8 \times 10^{-3}$	$7,0 \times 10^{-3}$	ND
Entrada do lodo de retorno		$3,5 \times 10^{-2}$	$2,0 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-2}$	9,7
ND = Não detectado					

Figura 5.17 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S nos aerossóis amostrados em cada local da ETE e a montante da ETE

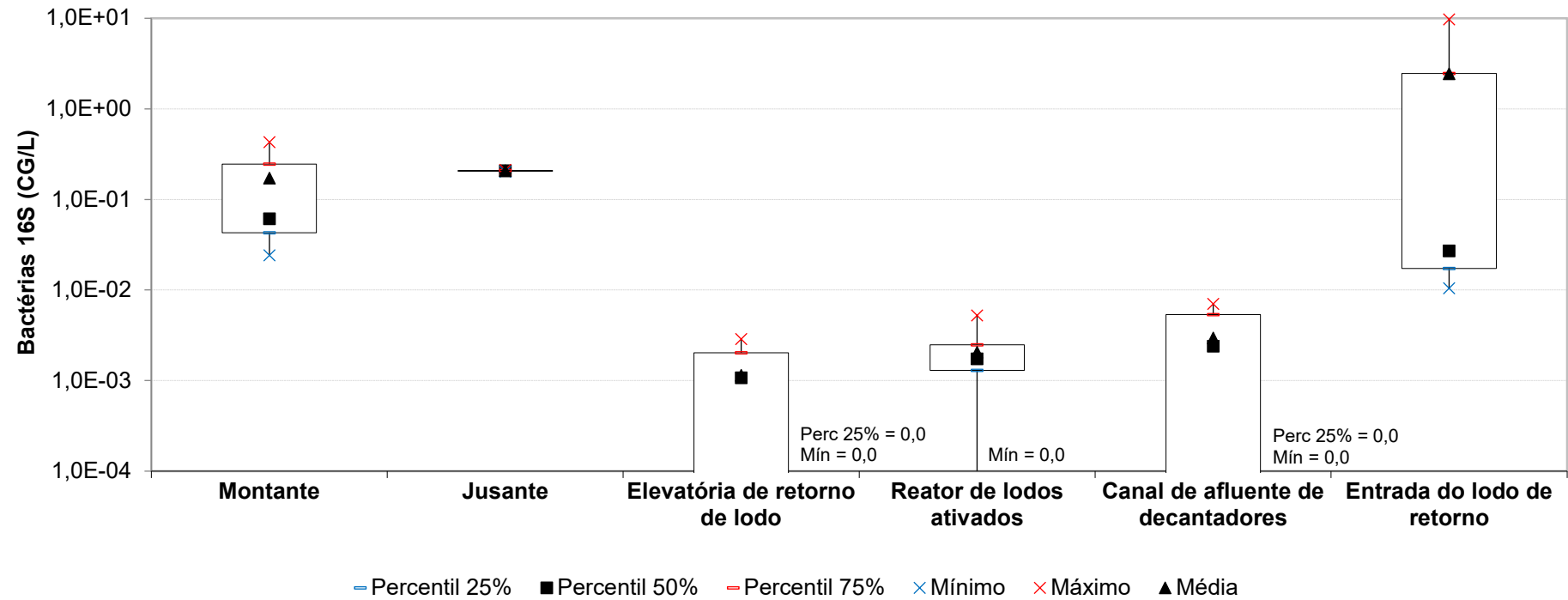


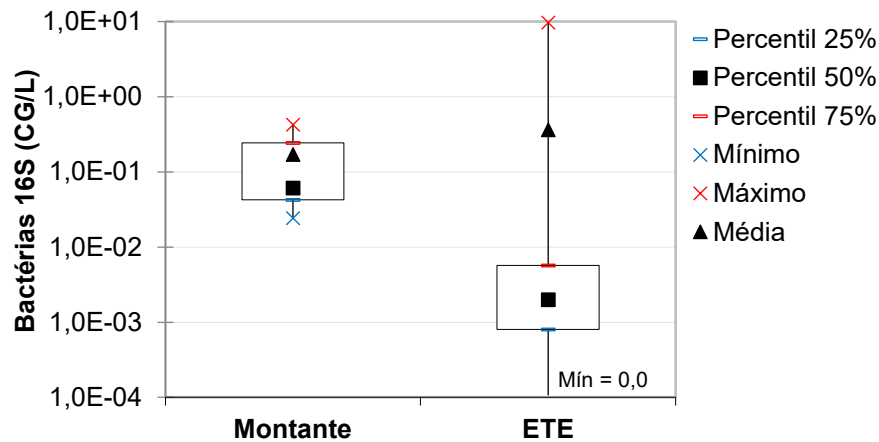
Tabela 5.17 – Teste de Dunn para comparação das concentrações de bactérias 16S nos aerossóis de diferentes locais na ETE B

Grupo 1			Grupo 2			Diferença entre ranks	Erro Padrão	Z _{calc}	Valor-p	Conclusão*
Nome	Mediana (CG/L)	Nº de dados	Nome	Mediana (CG/L)	Nº de dados					
Montante	$6,1 \times 10^{-2}$	3	Canal de afluente de decantadores	$2,4 \times 10^{-3}$	4	14,833	6,905	2,148	0,032	Medianas não são diferentes
Montante	$6,1 \times 10^{-2}$	3	Elevatória de retorno de lodo	$1,1 \times 10^{-3}$	9	17,667	6,027	2,931	0,003	Medianas não são diferentes
Montante	$6,1 \times 10^{-2}$	3	Entrada do lodo de retorno	$2,7 \times 10^{-2}$	4	1,333	6,905	0,193	0,847	Medianas não são diferentes
Montante	$6,1 \times 10^{-2}$	3	Jusante	$2,1 \times 10^{-1}$	2	1,167	8,253	0,141	0,888	Medianas não são diferentes
Montante	$6,1 \times 10^{-2}$	3	Reator de lodos ativados	$1,7 \times 10^{-3}$	9	14,444	6,027	2,397	0,017	Medianas não são diferentes
Jusante	$2,1 \times 10^{-1}$	2	Canal de afluente de decantadores	$2,4 \times 10^{-3}$	4	16,000	7,829	2,044	0,041	Medianas não são diferentes
Jusante	$2,1 \times 10^{-1}$	2	Elevatória de retorno de lodo	$1,1 \times 10^{-3}$	9	18,833	7,067	2,665	0,008	Medianas não são diferentes
Jusante	$2,1 \times 10^{-1}$	2	Entrada do lodo de retorno	$2,7 \times 10^{-2}$	4	2,500	7,829	0,319	0,749	Medianas não são diferentes
Jusante	$2,1 \times 10^{-1}$	2	Reator de lodos ativados	$1,7 \times 10^{-3}$	9	15,611	7,067	2,209	0,027	Medianas não são diferentes

Grupo 1			Grupo 2			Diferença entre ranks	Erro Padrão	Z _{calc}	Valor-p	Conclusão*
Nome	Mediana (CG/L)	Nº de dados	Nome	Mediana (CG/L)	Nº de dados					
Elevatória de retorno de lodo	$1,1 \times 10^{-3}$	9	Canal de afluyente de decantadores	$2,4 \times 10^{-3}$	4	2,833	5,433	0,522	0,602	Medianas não são diferentes
Elevatória de retorno de lodo	$1,1 \times 10^{-3}$	9	Entrada do lodo de retorno	$2,7 \times 10^{-2}$	4	16,333	5,433	3,006	0,003	Medianas são diferentes
Elevatória de retorno de lodo	$1,1 \times 10^{-3}$	9	Reator de lodos ativados	$1,7 \times 10^{-3}$	9	3,222	4,262	0,756	0,450	Medianas não são diferentes
Reator de lodos ativados	$1,7 \times 10^{-3}$	9	Canal de afluyente de decantadores	$2,4 \times 10^{-3}$	4	0,389	5,433	0,072	0,943	Medianas não são diferentes
Reator de lodos ativados	$1,7 \times 10^{-3}$	9	Entrada do lodo de retorno	$2,7 \times 10^{-2}$	4	13,111	5,433	2,413	0,016	Medianas não são diferentes
Canal de afluyente de decantadores	$2,4 \times 10^{-3}$	4	Entrada do lodo de retorno	$2,7 \times 10^{-2}$	4	13,500	6,393	2,112	0,035	Medianas não são diferentes

* α corrigido = 0,003

Figura 5.18 – Box-whisker da concentração de bactérias 16S nos aerossóis a montante da ETE (n = 3) e na ETE (n = 28)



5.4.4 *Haemophilus influenzae*

De 31 amostras de aerossóis da ETE B, em apenas 1 foi detectada a *Haemophilus influenzae* (3%). Essa amostra, com concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ CG/L, foi obtida com o amostrador de grande volume posicionado a jusante das instalações da ETE, no dia 18/03/2022.

A não detecção pode ser justificada tanto pela ausência ou baixa concentração do microrganismo na amostra quanto por interferências de outros compostos.

Da literatura analisada, não foi identificado nenhum trabalho que quantificasse *H. influenzae* em aerossóis em ETES.

5.4.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Na ETE A, de 38 amostras, em 9 foram detectadas *Pseudomonas aeruginosa* (24%) em concentrações variando entre $7,3 \times 10^{-6}$ CG/L e $2,5 \times 10^{-3}$ CG/L, com média de $1,3 \times 10^{-4}$ CG/L. As concentrações detectadas nas amostras de aerossóis da ETE A são apresentadas na Tabela 5.18.

De 31 amostras de aerossóis da ETE B, em apenas 1 foi detectada a *P. aeruginosa* (3%). Esta amostra, com concentração de $1,2 \times 10^{-6}$ CG/L, foi obtida com o amostrador de grande volume posicionado a jusante das instalações da ETE, no dia 17/03/2022.

Por meio de cultivo, Han et al. (2020a) encontraram *P. aeruginosa* em concentrações de cerca de 10^{-2} UFC/L em amostras de aerossóis de ETEs. Considerando que a análise por qPCR pode quantificar DNA de microrganismos não viáveis e não cultiváveis, as concentrações encontradas foram menores que as de Han et al. (2020a).

Tabela 5.18 – Concentrações de *P. aeruginosa* nos aerossóis amostrados por dia na ETE A (CG/L)

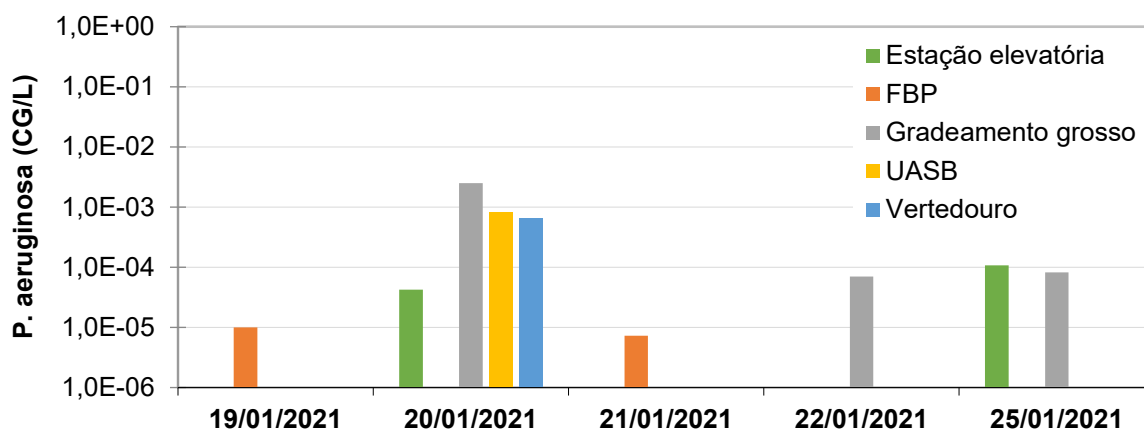
Local	Dia				
	19/01/2021	20/01/2021	21/01/2021	22/01/2021	25/01/2021
Montante	ND	ND	ND	ND	ND
Estação elevatória	ND	$4,2 \times 10^{-5}$	ND		$1,1 \times 10^{-4}$
Gradeamento grosso - AGV			ND	$7,0 \times 10^{-5}$	ND
Gradeamento grosso - APV	ND	$2,5 \times 10^{-3}$	ND		$8,3 \times 10^{-5}$
Vertedouro entre desarenadores e UASB	ND	ND	ND		ND
	ND	$6,7 \times 10^{-4}$	ND		ND
UASB	ND	$8,3 \times 10^{-4}$	ND	ND	ND
Calha Parshall UASB	ND	ND	ND		ND
FBP	$1,0 \times 10^{-5}$	ND	$7,3 \times 10^{-6}$	ND	ND

ND = Não detectado

A Figura 5.19 apresenta as concentrações de *P. aeruginosa* detectadas por dia e por local na ETE A. Pode-se observar que o dia com mais detecções foi o 2º dia de amostragem, com detecção em 4 locais distintos. É interessante destacar que neste dia houve detecção em 4 etapas de tratamento consecutivas, o que ajuda a reforçar a hipótese de que a bactéria se origine de aerossóis gerados a partir do esgoto. Além disso, ressalta-se a detecção de *P. aeruginosa* em 3 de 7 amostras de aerossóis coletados no gradeamento grosso, local de grande turbulência de esgoto bruto. Por último, nota-se que foi detectada a bactéria em 2 de 4 amostras coletadas na

borda do filtro biológico percolador, local com intensa formação de gotículas devido à aspersão do efluente do UASB.

Figura 5.19 – Detecção de *P. aeruginosa* em aerossóis na ETE A por dia e por local



5.4.6 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus foi detectada em 2 de 38 amostras de aerossóis na ETE A (5%) e em 4 de 31 amostras de aerossóis na ETE B (13%). Na ETE A, as concentrações encontradas foram de $2,5 \times 10^{-6}$ CG/L (FBP no dia 19/01/2022) e $1,7 \times 10^{-5}$ CG/L (estação elevatória no dia 20/01/2021). Na ETE B as concentrações variaram entre $6,9 \times 10^{-4}$ CG/L e $2,2 \times 10^{-2}$ CG/L. Não foi detectada *S. aureus* nas amostras a montante em nenhuma das ETEs, o que pode sugerir que os aerossóis produzidos na ETE contribuem para dispersão dessas bactérias no ar. As concentrações encontradas na ETE B são apresentadas na Tabela 5.19. A não detecção pode ser justificada tanto pela ausência ou baixa concentração do microrganismo na amostra quanto por interferências de outros compostos.

Utilizando cultivo, alguns trabalhos encontraram *S. aureus* em concentrações variando entre 10^{-2} a 10^1 UFC/L (CHEN et al., 2021; HAN et al., 2020a; NIAZI et al., 2015). Considerando que a análise por qPCR pode quantificar DNA de microrganismos não viáveis e não cultiváveis, as concentrações encontradas foram menores que as existentes na literatura.

A Figura 5.20 apresenta de forma gráfica as concentrações de *S. aureus* detectadas por dia e por local na ETE B. Pode-se observar que no dia 16/03/2022 houve detecção da bactéria tanto

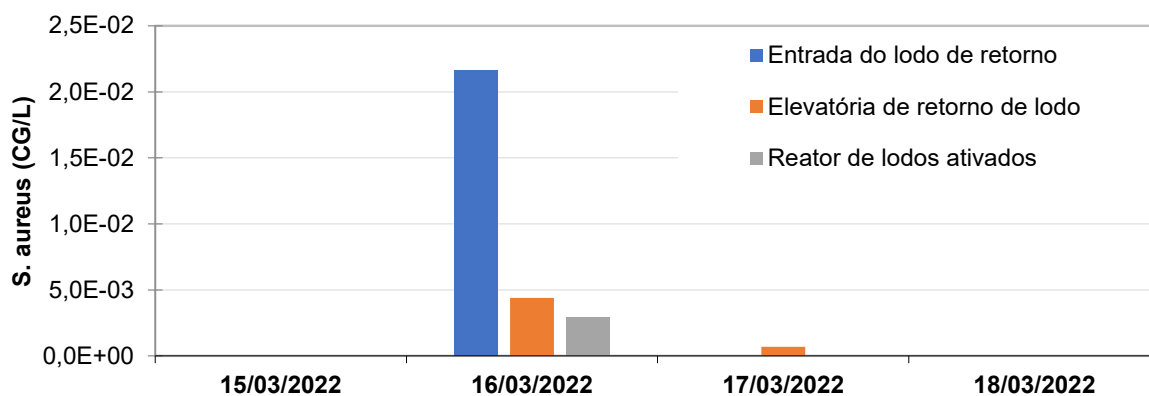
na entrada do lodo de retorno, quanto na elevatória de lodo de retorno e no reator de lodos ativados.

Tabela 5.19 – Concentrações de *S. aureus* nos aerossóis amostrados por dia na ETE B (CG/L)

Local	Dia				
	14/03/2022	15/03/2022	16/03/2022	17/03/2022	18/03/2022
Jusante				ND	ND
Montante			ND	ND	ND
Elevatória de retorno de lodo - manhã		ND	ND	ND	ND
Elevatória de retorno de lodo - tarde	ND	ND	$4,4 \times 10^{-3}$	$6,9 \times 10^{-4}$	ND
Reator de lodos ativados - manhã		ND	ND	ND	ND
Reator de lodos ativados - tarde	ND	ND	$2,9 \times 10^{-3}$	ND	ND
Canal de afluente de decantadores		ND	ND	ND	ND
Entrada do lodo de retorno		ND	$2,2 \times 10^{-2}$	ND	ND

ND = Não detectado

Figura 5.20 – Detecção de *S. aureus* em aerossóis na ETE B por dia e por local



5.4.7 Relação entre bactérias 16S, *H. influenzae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* na ETE B

Tanto a detecção única de *H. influenzae* quanto a de *P. aeruginosa* nos aerossóis da ETE B representam aproximadamente 0,0005% das bactérias 16S detectadas na mesma amostra.

Quanto às detecções de *S. aureus*, representaram de 24% a 217% da concentração de bactérias 16S quantificada, o que difere muito da fração identificada para os esgotos e lodos, que variaram entre 0,00009% e 0,003%. Além disso, as frações encontradas não são coerentes, uma vez que em 2 casos de 4, a concentração de *S. aureus* representaria mais que 100% das bactérias 16S. Essa incoerência pode ter sido efeito da diluição necessária para reduzir os inibidores da análise por qPCR ou mesmo de possível inibição na detecção de bactérias 16S nas amostras de aerossóis. Para futuros trabalhos seria interessante analisar se o material das membranas de gelatina prejudica a análise por qPCR de bactérias 16S e de outros microrganismos.

5.4.8 Relação de microrganismos nos aerossóis e no esgoto na ETE B

Na ETE B, analisou-se a relação entre os microrganismos presentes no esgoto bruto e os microrganismos presentes nos aerossóis do canal entre o tratamento preliminar e os decantadores primários, e a relação entre os microrganismos presentes no lodo e no esgoto do reator de lodos ativados com os microrganismos presentes nos aerossóis dos demais pontos de amostragem dentro da ETE.

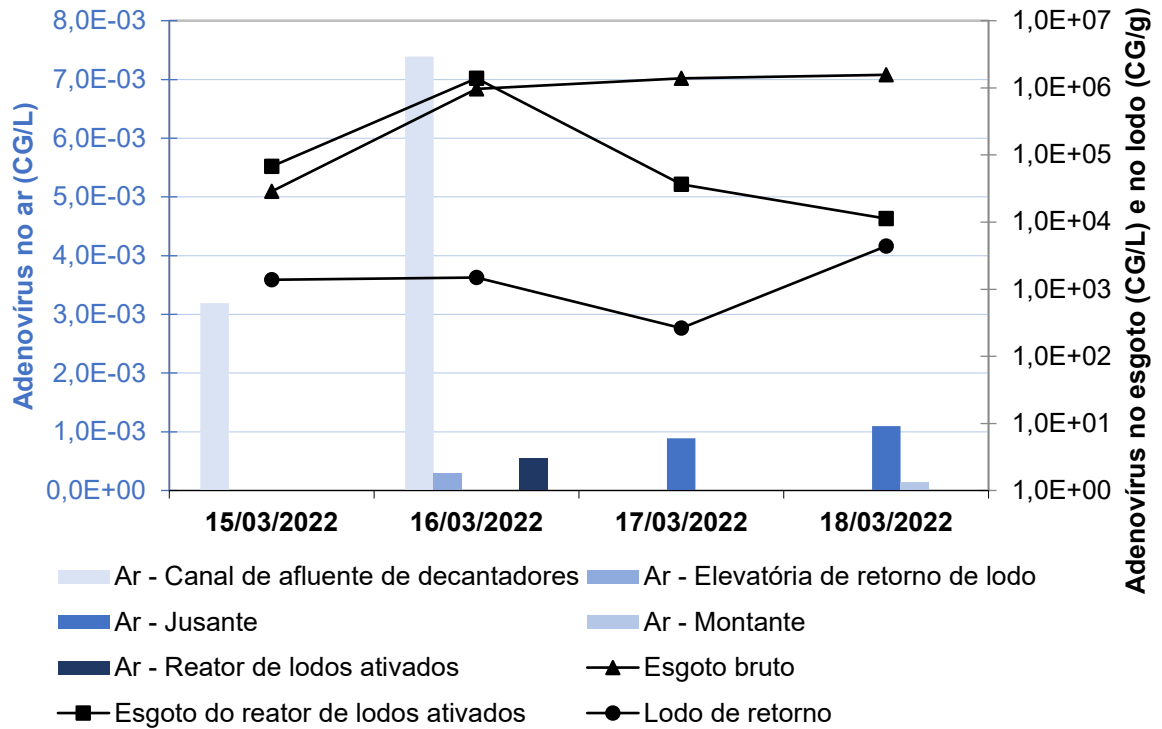
5.4.8.1 Adenovírus

A Figura 5.21 apresenta a relação entre as concentrações de adenovírus detectadas nos aerossóis e no esgoto e lodo da ETE B.

Os dias em que se detectou adenovírus nos aerossóis do canal de afluentes de decantadores correspondem aos dias de menor concentração do vírus no esgoto bruto.

A detecção de adenovírus nos aerossóis coletados no reator de lodos ativados e na elevatória de retorno de lodo ocorreram no dia de maior concentração de adenovírus no esgoto do reator de lodos ativados e 2º dia de maior detecção no lodo de retorno.

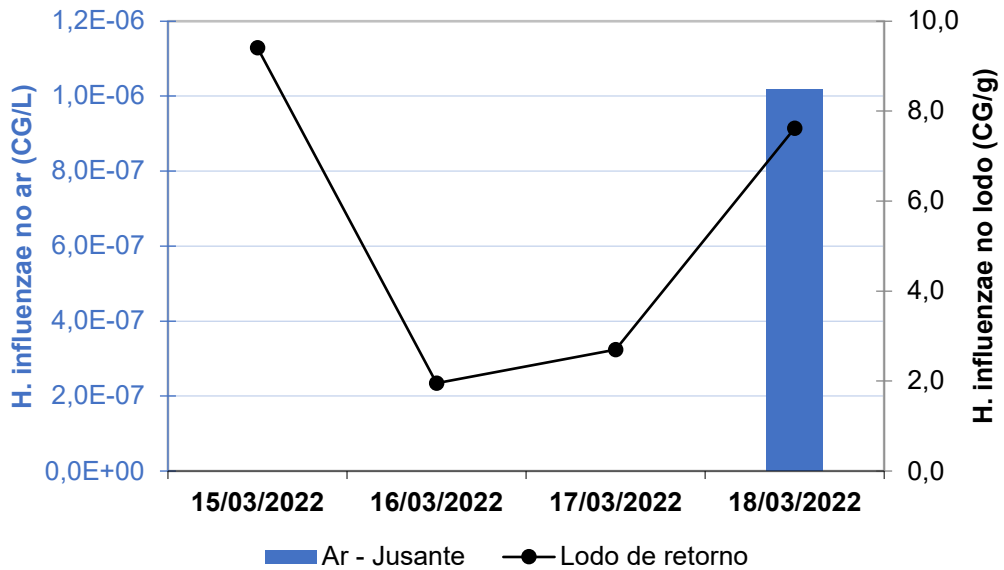
Figura 5.21 – Relação entre detecções de adenovírus no ar, no esgoto e no lodo por dia na ETE B



5.4.8.2 *Haemophilus influenzae*

A *H. influenzae* foi detectada no dia 18/03/2022 na amostra de jusante. Os amostradores de jusante operaram durante 24 horas, ou seja, os aerossóis coletados nessa amostra correspondem a uma parte do dia 17 e uma parte do dia 18. Esses dias corresponderam a 3^a e 2^a maior detecção no lodo de retorno, respectivamente, como pode ser observado na Figura 5.22.

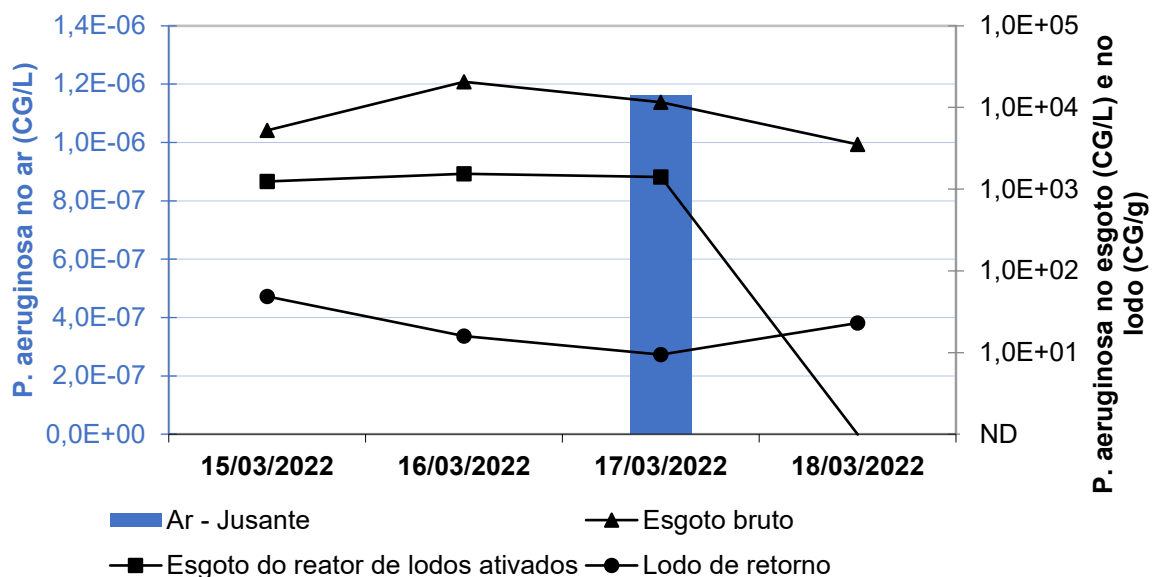
Figura 5.22 – Relação entre detecções de *H. influenzae* no ar e no lodo por dia na ETE B



5.4.8.3 *Pseudomonas aeruginosa*

A *P. aeruginosa* foi detectada no dia 17/03/2022 na amostra de jusante. Os amostradores de jusante operaram durante 24 horas, ou seja, os aerossóis coletados nessa amostra correspondem a uma parte do dia 16 e uma parte do dia 17. Esses dias corresponderam às 1ª e 2ª maiores detecções no esgoto bruto e no tanque de lodos ativados, respectivamente, como pode ser observado na Figura 5.23. Contudo, correspondem a 1ª e 2ª menor detecção no lodo de retorno.

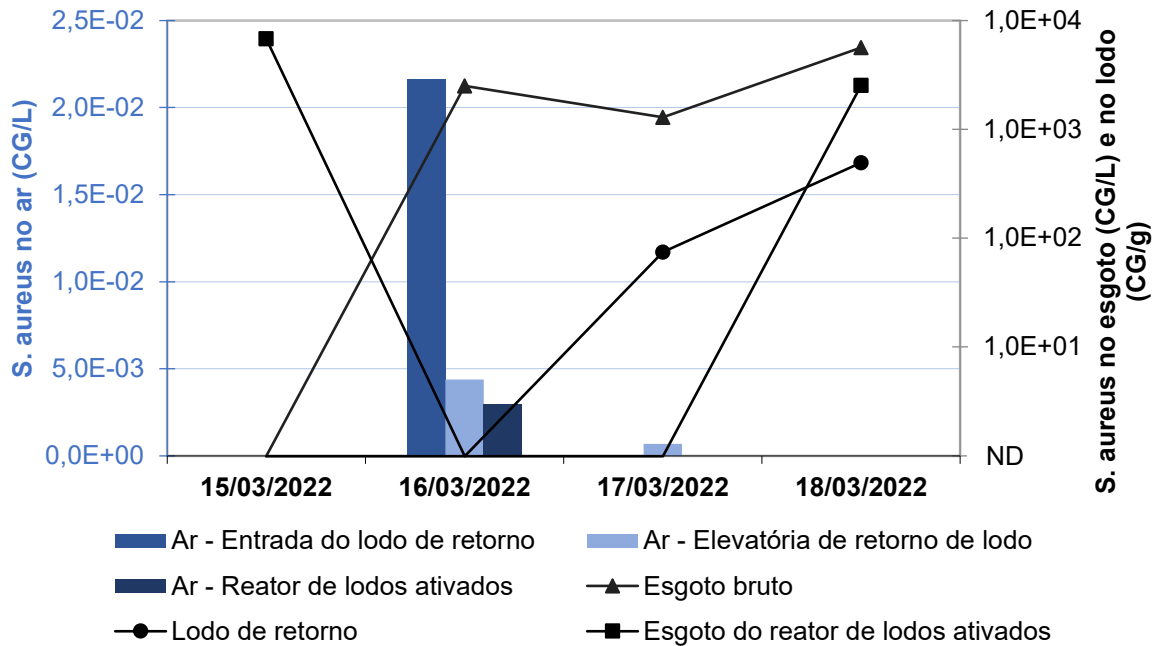
Figura 5.23 – Relação entre detecções de *P. aeruginosa* no ar, no esgoto e no lodo por dia na ETE B



5.4.8.4 *Staphylococcus aureus*

Nos dias em que houve detecção de *S. aureus* no ar, não houve detecção no esgoto dos lodos ativados e no lodo de retorno, mas, por outro lado, foram dias em que houve a 2ª e 3ª maior concentração detectada no esgoto bruto, como pode ser identificado na Figura 5.24.

Figura 5.24 – Relação entre detecções de *S. aureus* no ar, no esgoto e no lodo por dia na ETE B



5.4.8.5 Síntese

Não foi possível extrair conclusões expressivas sobre a relação entre os microrganismos patogênicos detectados no esgoto e os detectados nos aerossóis. A coleta de um número maior de amostras e aprimoramentos na metodologia de amostragem e análise poderiam contribuir para resultados mais claros sobre a existência de relação significativa.

5.4.9 Considerações sobre a detecção de microrganismos nos aerossóis

Foi notado que em apenas uma amostra de montante, dia 18/03/2022 na ETE B, foi detectado algum dos microrganismos patogênicos analisados (adenovírus). Isso reforça a hipótese de que a aerolização do esgoto pode contaminar o ar com microrganismos patogênicos, já que tais

microrganismos foram detectados com maior frequência nas amostras de locais dentro das ETEs.

Na ETE A nota-se que *P. aeruginosa* foi detectada em ao menos uma amostra de 5 dentre os 6 locais analisados, não tendo sido detectada em nenhuma das amostras da calha Parshall de efluente do UASB. Destaca-se também que dentre as amostras da borda do filtro biológico percolador, foram detectados os três microrganismos analisados (adenovírus, *P. aeruginosa* e *S. aureus*), nas amostras do gradeamento grosso apenas *S. aureus* não foi detectada e nas amostras da estação elevatória de esgoto bruto apenas adenovírus não foi detectado. Além disso, notou-se que apesar do vertedouro entre os desarenadores e os reatores UASB gerar tanta turbulência que até haviam colocado uma cobertura provisória, dentre 8 amostras coletadas foi detectado apenas um microrganismo dentre os analisados, *P. aeruginosa*, e em apenas uma amostra.

Na ETE B, adenovírus foi detectado em ao menos uma amostra de 4 dentre 5 locais analisados, sendo que não foi detectado apenas entre as amostras da entrada do lodo de retorno no reator de lodos ativados. Quanto às amostras a jusante da ETE, foi detectado adenovírus, *H. influenzae* e *P. aeruginosa*, não tendo sido detectada *S. aureus*.

Em relação à comparação dos resultados encontrados para diferentes locais nas ETEs, devem-se ressaltar dois pontos que podem ter sido determinantes para as diferenças e, inclusive, para as concentrações não detectadas: o volume amostrado e o filtro utilizado.

Notou-se, por exemplo, que na ETE B, *H. influenzae* e *P. aeruginosa* foram detectadas apenas nas amostras a jusante, que foram coletadas com amostradores de grande volume, durante 24 horas, em filtros de quartzo. Além disso os adenovírus também foram detectados em 100% dessas amostras (2 em 2). Esses fatos podem indicar que o grande volume coletado por esses amostradores é essencial para a detecção de microrganismos patogênicos.

Ao comparar os resultados obtidos para as duas ETEs, pode-se perceber que apesar de *P. aeruginosa* ter sido detectada em apenas 1 amostra de 31 na ETE B, ela foi detectada em 9 de 38 na ETE A. Apesar de terem sido coletadas em períodos e ETEs diferentes, um outro aspecto que as distingue e que pode ser objeto de futuras pesquisas é o material do filtro utilizado, uma

vez que na ETE A foram utilizados filtros de quartzo e de PTFE e na ETE B, filtros de quartzo e gelatina. Em contrapartida, *S. aureus* foi detectada em uma parcela menor de amostras na ETE A (5%) do que na ETE B (13%).

Quanto aos filtros utilizados, os filtros de quartzo e PTFE passam por uma etapa de eluição, que pode ocasionar perda de material. Seria interessante, então, analisar a eficiência de recuperação dos procedimentos de eluição utilizados.

Já as membranas de gelatina, apesar de não passarem pela etapa de eluição, possuem proteína o que poderia inibir a detecção do qPCR dificultando a quantificação dos microrganismos. Entretanto alguns trabalhos foram encontrados tendo sucesso ao analisarem SARS-CoV-2 em membranas de gelatina com o auxílio de RT-qPCR (MALLACH et al., 2021; PATZELT et al., 2020). Um outro aspecto de membranas de gelatina que deve ser considerado é que elas podem tornar frágeis durante a amostragem, por ressecamento ou excesso de umidade, em especial durante longos períodos de amostragem, e Wang et al. (2015) sugerem que, com os poros deformados, partículas menores de aerossol não seriam retidas nos filtros, resultando em menor concentração.

5.4.9.1 Limitações

Conforme mencionado ao longo do texto, algumas limitações deste estudo quanto à detecção de microrganismos patogênicos nos aerossóis que podem ser melhoradas em estudos futuros são:

1. Limitação estatística dos dados por não serem representativos do universo amostral.
2. Desconhecimento quanto à viabilidade e infectividade dos microrganismos detectados.
3. Ausência de análise de eficiências de recuperação dos métodos usados para eluição das membranas e extração do material genético.
4. Ausência de análise das eficiências de coleta dos diferentes filtros utilizados.

5.5 Avaliação de Risco de Infecção por Adenovírus

5.5.1 Cenários de exposição

5.5.1.1 ETE A

Devido à quantidade limitada de dados, especialmente a quantidade de detecções de adenovírus nas amostras, optou-se por considerar cenário de exposição em que a concentração de adenovírus varie uniformemente entre 0 e o máximo detectado nas amostras de aerossóis (Cenário 1). Contudo, como o máximo detectado para a ETE A foi de $1,1 \times 10^{-2}$ CG/L, que é expressivamente maior que o 2º maior valor para essa ETE ($3,6 \times 10^{-4}$ CG/L), e também é maior que as concentrações encontradas na ETE B (máximo = $1,1 \times 10^{-3}$ CG/L), optou-se por analisar também um cenário de exposição em que a maior concentração fosse desconsiderada (Cenário 2). A Tabela 5.20 apresenta um resumo dos cenários analisados.

Tabela 5.20 – Parâmetros de exposição considerados por cenário para ETE A

Cenário	Concentrações consideradas	Distribuição	Duração da exposição
1	Todos os aerossóis gerados na ETE	Uniforme Mínimo: 0,0 CG/m ³ Máximo: 11 CG/m ³	Constante 8 horas
2	Todos os aerossóis gerados na ETE exceto a amostra com concentração máxima	Uniforme Mínimo: 0,0 CG/m ³ Máximo: 0,36 CG/m ³	Constante 8 horas

5.5.1.2 ETE B

A partir dos resultados da análise de adenovírus nos aerossóis decidiu-se analisar o risco de exposição na ETE B, para uma exposição diária de 8 horas, considerando a concentração apenas do amostrador a jusante (Cenário 1) e a concentração de todos com exceção do de montante e do de canal, uma vez que o canal é coberto (Cenário 2). Além disso, optou-se por analisar o risco de exposição aos aerossóis gerados no canal de afluentes dos decantadores primários, considerando a situação hipotética em que ele não fosse coberto (Cenário 3).

Devido à restrita quantidade de amostras em que foi possível detectar o adenovírus, optou-se por assumir distribuição uniforme entre o mínimo e o máximo de cada grupo de amostradores considerado. A Tabela 5.21 apresenta um resumo dos cenários analisados.

Tabela 5.21 – Parâmetros de exposição considerados por cenário para ETE B

Cenário	Concentrações consideradas	Distribuição	Duração da exposição
1	Amostrador a jusante da ETE (n = 2)	Uniforme Mínimo: 0,89 CG/m ³ Máximo: 1,1 CG/m ³	Constante 8 horas
2	Todos os amostradores exceto de montante e do canal de afluente dos decantadores primários (n = 24)	Uniforme Mínimo: 0,0 CG/m ³ Máximo: 1,1 CG/m ³	Constante 8 horas
3	Amostrador no canal de afluente dos decantadores primários (n = 4)	Uniforme Mínimo: 0,0 CG/m ³ Máximo: 7,4 CG/m ³	Uniforme Mínimo: 15 min Máximo: 1 hora

5.5.2 Probabilidade de infecção

5.5.2.1 ETE A

As probabilidades de infecção para cada cenário e modelo dose-resposta foram calculadas independentemente e são apresentadas na Figura 5.25. Pode-se observar que o Cenário 1 apresentou probabilidades de infecção anual muito maior que o Cenário 2. Reforça-se com isso a necessidade de maior compreensão acerca da distribuição de concentração de adenovírus nos aerossóis para garantir que os resultados da AQRM sejam mais confiáveis.

A Tabela 5.22 apresenta as probabilidades de infecção médias, máximas e mínimas encontradas. Ressalta-se que todas as médias estão acima da probabilidade de infecção tolerada pela US EPA, de 10^{-4} (CHEN et al., 2021).

Os valores encontrados para a utilização dos dois modelos foram comparados e para todos os cenários houve diferença significativa entre os modelos, sendo que as probabilidades encontradas para o modelo beta-Poisson são maiores que as calculadas para o modelo exponencial. Os parâmetros dos testes estatísticos utilizados são apresentados na Tabela 5.22.

Figura 5.25 – Probabilidade anual de infecção a adenovírus por inalação nos dois cenários considerados para a ETE A

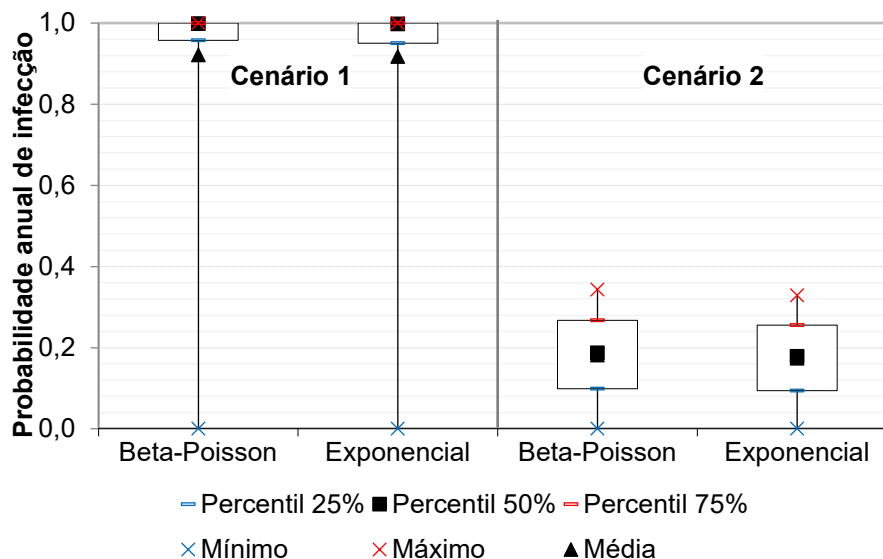


Tabela 5.22 – Probabilidade anual de infecção para os dois cenários da ETE A e para os dois modelos de dose-resposta

Cenário		Modelo Beta-Poisson	Modelo Exponencial	Comparação
1	Média	0,921	0,917	Estatisticamente diferentes ($Z = 6,17$, $n_1 = n_2 = 10000$, $p = 6,88 \times 10^{-10}$)
	Máximo	1,000	1,000	
	Mínimo	$3,91 \times 10^{-4}$	$3,71 \times 10^{-4}$	
2	Média	0,182	0,174	Estatisticamente diferentes ($Z = 6,25$, $n_1 = n_2 = 10000$, $p = 4,04 \times 10^{-10}$)
	Máximo	0,343	0,328	
	Mínimo	0,000	0,000	

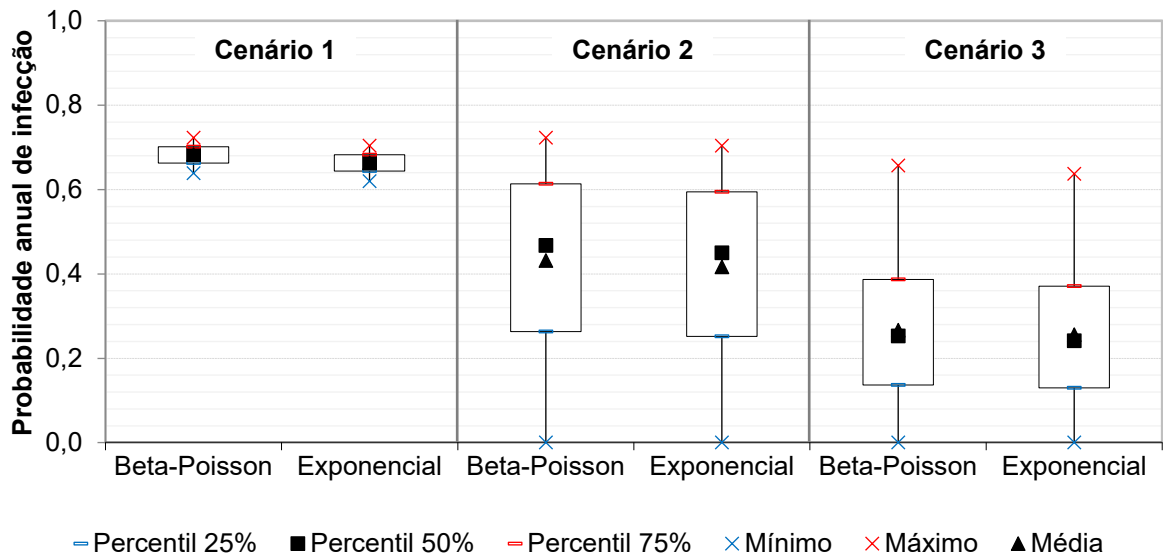
5.5.2.2 ETE B

As probabilidades de infecção para cada cenário e modelo dose-resposta foram calculadas para a ETE B independentemente e são apresentadas na Figura 5.26. Pode-se observar que o Cenário 1, em que foi considerada exposição de 8 horas diárias às concentrações detectadas pelo amostrador a jusante da ETE foi a que apresentou probabilidades de infecção mais altas. Enquanto o Cenário 3, que representa a situação em que um trabalhador fica de 15 minutos a 1 hora próximo a um local de grande formação de aerossóis, aqui representado pelo canal de

afluente dos decantadores primários, resultou, individualmente, em probabilidades de infecção menores. No Cenário 2 que considera as amostragens em que não foi detectado adenovírus, apresentou média e medianas de probabilidade de infecção menores que o Cenário 1, o que reforça a necessidade de maior entendimento quanto a distribuição de concentração do adenovírus na ETE.

A Tabela 5.23 apresenta as probabilidades de infecção médias, máximas e mínimas encontradas. Ressalta-se que todas as médias estão acima da probabilidade de infecção tolerada pela US EPA, de 10^{-4} (CHEN et al., 2021).

Figura 5.26 – Probabilidade anual de infecção a adenovírus por inalação nos três cenários considerados para a ETE B



Os valores encontrados para a utilização dos dois modelos foram comparados e para todos os cenários houve diferença significativa entre os modelos, sendo que as probabilidades encontradas para o modelo beta-Poisson são maiores que as calculadas para o modelo exponencial. Os parâmetros dos testes estatísticos utilizados são apresentados na Tabela 5.23.

Tabela 5.23 – Probabilidade anual de infecção para os três cenários da ETE B e para os dois modelos de dose-resposta

Cenário		Modelo Beta-Poisson	Modelo Exponencial	Comparação
1	Média	0,682	0,663	Estatisticamente diferentes ($Z = 52,97$, $n_1 = n_2 = 10000$, $p = 0$)
	Máximo	0,723	0,704	
	Mínimo	0,639	0,620	
2	Média	0,431	0,416	Estatisticamente diferentes ($Z = 6,19$, $n_1 = n_2 = 10000$, $p = 5,9 \times 10^{-10}$)
	Máximo	0,723	0,704	
	Mínimo	$7,68 \times 10^{-5}$	$7,29 \times 10^{-5}$	
3	Média	0,266	0,255	Estatisticamente diferentes ($Z = 4,39$, $n_1 = n_2 = 10000$, $p = 1,1 \times 10^{-5}$)
	Máximo	0,656	0,637	
	Mínimo	$6,82 \times 10^{-5}$	$6,47 \times 10^{-5}$	

5.5.2.3 Comparação com dados da literatura

Carducci et al. (2016) utilizaram AQRM para avaliar risco de infecção por inalação de adenovírus em diferentes locais em uma ETE. Consideraram a duração da exposição variando entre 3 e 15 minutos, consideravelmente menor que o tempo utilizado neste trabalho. Além disso, não fica claro se avaliaram o risco para um ano de exposição ou para uma única exposição, o que dificulta a comparação de seus resultados com os deste trabalho. Para 15 minutos de exposição encontraram probabilidade variando entre um pouco menos que 0,2 e um pouco mais que 0,5.

Carducci et al. (2018) utilizaram AQRM para calcular a concentração limite de exposição para diferentes níveis de risco de doença, e, considerando duração de exposição de 3 minutos, propõem o limite de 6 e 54 CG/m³ para probabilidade de doença de 10⁻⁵ e 10⁻⁴, respectivamente. As concentrações máximas encontradas para as ETEs estudadas neste trabalho, 11 CG/m³ na ETE A e 7,4 CG/m³ na ETE B, equivaleriam, então, a probabilidades de doença menores que 10⁻⁴ e maiores que 10⁻⁵, para 3 minutos de exposição, cenário muito diferente do considerado neste trabalho.

5.5.3 Análise de sensibilidade

As correlações entre as probabilidades de infecção e a concentração e duração de exposição foram analisadas e são apresentadas na Tabela 5.24. É possível observar forte correlação positiva entre a concentração e a probabilidade de infecção para todos os cenários, como esperado. Para o Cenário 3 da ETE B, em que a duração de exposição variou entre 15 minutos e 1 hora, foi identificada correlação positiva entre a duração da exposição e a probabilidade de infecção, mas com r_s menor que o da concentração.

Tabela 5.24 – Resultados da análise de correlação de Spearman entre $P_{inf,anual}$ e parâmetros não-constantes

ETE	Cenário	Parâmetros	r_s	P-valor	Conclusão
ETE A	1	$P_{inf,anual}^*$ x Concentração	0,9998	0	Existe correlação significativa
	2	$P_{inf,anual}^*$ x Concentração	0,9998	0	
ETE B	1	$P_{inf,anual}^*$ x Concentração	0,9885	0	Existe correlação significativa
	2	$P_{inf,anual}^*$ x Concentração	0,9998	0	
		$P_{inf,anual}^*$ x Concentração	0,8597	0	
	3	$P_{inf,anual}^*$ x Duração da exposição	0,4503	0	

* Os resultados da análise de correlação de Spearman foram os mesmos tanto para o modelo de dose-resposta beta-Poisson quanto para o modelo de dose-resposta exponencial.

5.5.4 Considerações sobre a avaliação de risco

As probabilidades de infecção anuais encontradas não seriam toleráveis de acordo com a tolerância proposta pela US EPA. Contudo, algumas melhorias poderiam ser aplicadas à avaliação de risco realizada a fim de diminuir as incertezas. São elas:

1. Distribuição de probabilidade da concentração de adenovírus no ar mais adequada mediante aumento no número de amostras, desenvolvimento de metodologias para melhorar a coleta e detecção do adenovírus e identificação do nível de detecção.
2. Quantificação de adenovírus capazes de causar infecção e consideração sobre inativação dos vírus nos aerossóis com o tempo.

3. Análise de tipos de adenovírus separadamente uma vez que podem apresentar diferentes relações com o hospedeiro, sendo que dois terços dos adenovírus humanos conhecidos causam apenas infecções assintomáticas (ALLARD; VANTARAKIS, 2019).
4. Consideração quanto a imunidade adquirida pelos indivíduos expostos.
5. Análises separadas de acordo com os diâmetros aerodinâmicos das partículas uma vez que o diâmetro da partícula influencia seu destino dentro do organismo e patógenos podem ter resultados diferentes de acordo com seu paradeiro no trato respiratório (LINDSLEY et al., 2017).
6. Consideração sobre outras rotas de exposição, como o contato com superfícies contaminadas e a ingestão de aerossóis junto com saliva.
7. Além disso, é necessário ressaltar que aerossóis são compostos por uma grande mistura de substâncias e microrganismos que têm diferentes impactos na saúde dos indivíduos que os inalam (LINDSLEY et al., 2017).

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram identificados e quantificados diversos microrganismos patogênicos nos aerossóis de uma ETE. Destaca-se a quantificação de *H. influenzae* em lodo de retorno e aerossóis pela primeira vez, até onde se sabe. Foi detectado adenovírus em mais amostras que os outros patógenos analisados na ETE B (7 de 31) e em 4 amostras de 38 na ETE A e, considerando sua patogenicidade, a avaliação de risco para adenovírus foi realizada. Os outros microrganismos analisados, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, também foram detectados tanto nas amostras da fase líquida (*P. aeruginosa*: 11 de 12; *S.aureus*: 7 de 12), quanto nas amostras de aerossóis, nas quais *P. aeruginosa* foi detectada em 9 de 38 (ETE A) e 1 de 31 (ETE B), e *S. aureus* detectada em 2 de 38 (ETE A) e 4 de 31 (ETE B). A detecção dos microrganismos no esgoto e, em especial, nos aerossóis, reforça a necessidade de mais estudos para avaliar o risco dos trabalhadores a esses patógenos, assim como o risco de populações que habitam nas proximidades de canais de esgoto a céu aberto. É necessário ressaltar que este trabalho não analisou viabilidade ou infectividade desses microrganismos.

Não foi encontrado SARS-CoV-2 nas amostras de aerossóis, mas isso não elimina a possibilidade de que o vírus seja aerolizado, em especial uma vez que já foi detectado por outros trabalhos.

A partir dos dados obtidos não foi possível identificar relações claras entre os microrganismos detectados na fase líquida e nos aerossóis, contudo nota-se que todos os microrganismos analisados foram identificados em ao menos uma amostra de fase líquida na ETE B por dia.

A avaliação de risco de infecção por adenovírus por inalação resultou em probabilidades de infecção anuais maiores que o recomendado pela US EPA. Entretanto, para que os resultados sejam mais confiáveis, melhorias devem ser realizadas no modelo, principalmente quanto à concentração e tipos de adenovírus aos quais os trabalhadores podem estar expostos e às rotas de exposição consideradas. Ao comparar os dois modelos de dose-resposta considerados neste trabalho, foi identificado que o modelo exponencial utilizado resultou em probabilidades de infecção ligeiramente menores que o modelo beta Poisson desenvolvido mais recentemente a partir de um número maior de trabalhos. A máxima diferença percentual entre as médias encontradas foi de 5%.

Apesar de não termos informações sobre a viabilidade dos organismos patogênicos detectados, deve-se reforçar a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) para aumentar a segurança dos trabalhadores. Sendo assim, seria importante que gestores de ETEs garantam que as medidas de segurança sejam cumpridas, em especial em situações extremas, como a pandemia de COVID-19, e que apoiem pesquisas para que se conheça mais acertadamente o risco.

Este trabalho é o primeiro trabalho a analisar microrganismos patogênicos nos aerossóis de ETEs no Brasil e um dos poucos a avaliar, baseado em AQRM, o risco que esses microrganismos representam aos trabalhadores. Além disso, foram explorados diferentes materiais para amostragem de aerossóis uma vez que ainda não existe um consenso na literatura quanto à metodologia para amostragem de aerossóis em ETEs. Espera-se que as contribuições deste trabalho possam servir de apoio para trabalhos futuros.

7 RECOMENDAÇÕES

A futuros trabalhos a serem desenvolvidos recomenda-se:

- Analisar a totalidade da comunidade microbiana dos aerossóis por meio de sequenciamento e comparar com a comunidade microbiana de aerossóis externos à ETE.
- Coletar os aerossóis por meio de amostradores pessoais carregados pelos trabalhadores para uma coleta mais fidedigna dos aerossóis respirados por eles.
- Analisar os aerossóis separadamente de acordo com as diferentes faixas de diâmetro aerodinâmico, uma vez que este influencia o destino da partícula dentro do organismo.
- Analisar a viabilidade dos microrganismos coletados.
- Analisar a presença de microrganismos resistentes a antibióticos nos aerossóis.
- Estruturar um plano de amostragem ao longo de um ano inteiro para promover uma melhor representatividade estatística dos aerossóis coletados.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, J. S. et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA on public surfaces in a densely populated urban area of Brazil: A potential tool for monitoring the circulation of infected patients. **Science of The Total Environment**, v. 766, p. 142645, abr. 2021.
- AHMED, W. et al. Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR-based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. **Science of The Total Environment**, v. 739, p. 139960, 15 out. 2020.
- ALLARD, A.; VANTARAKIS, A. Adenoviruses. Em: ROSE, J. B.; JIMÉNEZ-CISNEROS, B. (Eds.). . **Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)**. (J.S Meschke, and R. Girones (eds), Part 3: Specific Excreted Pathogens: Environmental and Epidemiology Aspects - Section 1: Viruses). Michigan State University, E. Lansing, MI: UNESCO, 2019.
- APHA-AWWA-WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23. ed. Washington, DC: APHA American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2017.
- AW, T. Environmental Aspects and Features of Critical Pathogen Groups. Em: ROSE, J. B.; JIMÉNEZ-CISNEROS, B. (Eds.). . **Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)**. (J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros (eds) Part 1: The Health Hazards of Excreta: Theory and Control). Michigan State University, E. Lansing, MI: UNESCO, 2018.
- BAMBIC, D. et al. **Quantification of Pathogens and Sources of Microbial Indicators for QMRA in Recreational Waters**. [s.l.] IWA Publishing, 2011.
- BASTOS, R. K. X.; BEVILACQUA, P. D.; MIERZWA, J. C. Análise de risco Aplicada ao Abastecimento de Água para Consumo Humano. Em: PÁDUA, V. L. DE (Ed.). . **Remoção de microorganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano**. Projeto PROSAB. 1. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2009.
- BIVINS, A. et al. **Wastewater Concentration by Adsorption and Direct Extraction for SARS-CoV-2 RNA Detection and Quantification using RT-ddPCR v2**. 1 jul. 2020. Disponível em: <<https://www.protocols.io/view/wastewater-concentration-by-adsorption-and-direct-bhiuj4ew>>. Acesso em: 19 jun. 2022
- BURDSALL, A. C. et al. Bioaerosol emissions from activated sludge basins: Characterization, release, and attenuation. **Science of The Total Environment**, v. 753, p. 141852, 20 jan. 2021.
- BURTON, N. C.; GRINSHPUN, S. A.; REPONEN, T. Physical Collection Efficiency of Filter Materials for Bacteria and Viruses. **The Annals of Occupational Hygiene**, v. 51, n. 2, p. 143–151, 1 mar. 2007.
- CAMRA. **Adenovirus: Dose Response Experiments**. **QMRA Wiki**, [s.d.]. Disponível em: <<http://qmrawiki.org/experiments/adenovirus#ref3>>. Acesso em: 29 abr. 2022.

CARDUCCI, A. et al. Quantitative Microbial Risk Assessment in Occupational Settings Applied to the Airborne Human Adenovirus Infection. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 7, p. 733, jul. 2016.

CARDUCCI, A. et al. Quantitative Microbial Risk Assessment for Workers Exposed to Bioaerosol in Wastewater Treatment Plants Aimed at the Choice and Setup of Safety Measures. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 7, p. 1490, jul. 2018.

CASCELLA, M. et al. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.

CDC. **About Haemophilus influenzae**. Centers for Disease Control and Prevention, 4 mar. 2022. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/hi-disease/about/index.html>>. Acesso em: 1 jul. 2022.

CHAHAL, C. et al. Pathogen and Particle Associations in Wastewater. **Advances in Applied Microbiology**, v. 97, p. 63–119, 2016.

CHEN, Y. et al. Quantitative microbial risk assessment and sensitivity analysis for workers exposed to pathogenic bacterial bioaerosols under various aeration modes in two wastewater treatment plants. **Science of The Total Environment**, v. 755, p. 142615, 10 fev. 2021.

CHERNICHARO, C. A. DE L. **Reatores anaeróbios**. 2^a ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016. v. 5

CLAASSEN-WEITZ, S. et al. Fecal Carriage of Staphylococcus aureus in the Hospital and Community Setting: A Systematic Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 10 maio 2016.

COUCH, R. B. et al. Effect of route of inoculation on experimental respiratory viral disease in volunteers and evidence for airborne transmission. **Bacteriological Reviews**, v. 30, n. 3, p. 517–529, set. 1966.

CRABTREE, K. D. et al. Waterborne adenovirus: A risk assessment. **Water Science and Technology**, Health-Related Water Microbiology 1996. v. 35, n. 11, p. 1–6, 1 jan. 1997.

DADA, A. C.; GYAWALI, P. Quantitative microbial risk assessment (QMRA) of occupational exposure to SARS-CoV-2 in wastewater treatment plants. **Science of The Total Environment**, v. 763, p. 142989, 1 abr. 2021.

ESPINOSA, M. F. et al. Reduction and liquid-solid partitioning of SARS-CoV-2 and adenovirus throughout the different stages of a pilot-scale wastewater treatment plant. **Water Research**, v. 212, p. 118069, abr. 2022.

FANNIN, K. F.; VANA, S. C.; JAKUBOWSKI, W. Effect of an activated sludge wastewater treatment plant on ambient air densities of aerosols containing bacteria and viruses. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 49, n. 5, p. 1191–1196, 1 maio 1985.

FARVER, C. F.; ZANDER, D. S. Molecular Basis of Pulmonary Disease. Em: **Molecular Pathology**. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 305–364.

FATHI, S. et al. Assessment of microbial aerosol emissions in an urban wastewater treatment plant operated with activated sludge process. **Aerobiologia**, v. 33, n. 4, p. 507–515, 1 dez. 2017.

FEDERIGI, I. et al. The application of quantitative microbial risk assessment to natural recreational waters: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 144, p. 334–350, jul. 2019.

FENNELLY, K. P. Particle sizes of infectious aerosols: implications for infection control. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 9, p. 914–924, set. 2020.

FURUMOTO, W. A.; MICKEY, R. A mathematical model for the infectivity-dilution curve of tobacco mosaic virus: Theoretical considerations. **Virology**, v. 32, n. 2, p. 216–223, jun. 1967.

GHOLIPOUR, S. et al. COVID-19 infection risk from exposure to aerosols of wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 273, p. 129701, jun. 2021.

GINN, O. et al. Detection and Quantification of Enteric Pathogens in Aerosols Near Open Wastewater Canals in Cities with Poor Sanitation. **Environmental Science & Technology**, v. 55, n. 21, p. 14758–14771, 2 nov. 2021.

GONZALES-GUSTAVSON, E. et al. Quantitative risk assessment of norovirus and adenovirus for the use of reclaimed water to irrigate lettuce in Catalonia. **Water Research**, v. 153, p. 91–99, abr. 2019.

GÓRNY, R. L. Microbial Aerosols: Sources, Properties, Health Effects, Exposure Assessment—A Review. **KONA Powder and Particle Journal**, v. 37, p. 64–84, 2020.

GUO, M. et al. Potential intestinal infection and faecal–oral transmission of SARS-CoV-2. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 18, n. 4, p. 269–283, abr. 2021.

HAAS, C. N.; ROSE, J. B.; GERBA, C. P. **Quantitative microbial risk assessment**. 2nd edition ed. Hoboken, New Jersey: Wiley, 2014.

HAN, Y. et al. Bioaerosols emission and exposure risk of a wastewater treatment plant with A2O treatment process. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 161–168, mar. 2019.

HAN, Y. et al. Effect of aeration mode on aerosol characteristics from the same wastewater treatment plant. **Water Research**, v. 170, p. 115324, mar. 2020a.

HAN, Y. et al. Characteristics and interactions of bioaerosol microorganisms from wastewater treatment plants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 391, 5 jun. 2020b.

HELDAL, K. et al. Exposure, symptoms and airway inflammation among sewage workers. **Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM**, v. 17, p. 263–8, 1 dez. 2010.

HELLER, L.; MOTA, C. R.; GRECO, D. B. COVID-19 faecal-oral transmission: Are we asking the right questions? **Science of The Total Environment**, v. 729, p. 138919, ago. 2020.

HOOSTE, W. V. et al. Work-related *Helicobacter pylori* infection among sewage workers in municipal wastewater treatment plants in Belgium. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 67, n. 2, p. 91–97, 1 fev. 2010.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Normais Climatológicas do Brasil 1991-2020**. 2022. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/normais>>. Acesso em: 29 maio. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - INMET. **Mapa de Estações**. [s.d.]. Disponível em: <<https://mapas.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 3 jul. 2022.

JALOWIECKI, Ł. et al. Seasonal and Technological Shifts of the WHO Priority Multi-Resistant Pathogens in Municipal Wastewater Treatment Plant and Its Receiving Surface Water: A Case Study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 1, p. 336, jan. 2022.

JIANG, W. et al. Optimized DNA extraction and metagenomic sequencing of airborne microbial communities. **Nature Protocols**, v. 10, n. 5, p. 768–779, maio 2015.

KANG, M. et al. Probable Evidence of Fecal Aerosol Transmission of SARS-CoV-2 in a High-Rise Building. **Annals of Internal Medicine**, 1 set. 2020.

KHUDER, S. A. et al. Prevalence of infectious diseases and associated symptoms in wastewater treatment workers. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 33, n. 6, p. 571–577, 1 jun. 1998.

KING, M. D. et al. Assays and enumeration of bioaerosols-traditional approaches to modern practices. **Aerosol Science and Technology**, 24 fev. 2020.

KITAJIMA, M. et al. SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. **Science of The Total Environment**, v. 739, p. 139076, 15 out. 2020.

KLINDWORTH, A. et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. 1, p. e1, 1 jan. 2013.

KOWALSKI, M. et al. Characteristics of airborne bacteria and fungi in some Polish wastewater treatment plants. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, n. 10, p. 2181–2192, out. 2017.

KOZAJDA, A.; JEŹAK, K. Occupational exposure to *Staphylococcus aureus* in the wastewater treatment plants environment. **Medycyna Pracy**, 27 abr. 2020.

KUNDU, A.; MCBRIDE, G.; WUERTZ, S. Adenovirus-associated health risks for recreational activities in a multi-use coastal watershed based on site-specific quantitative microbial risk assessment. **Water Research**, v. 47, n. 16, p. 6309–6325, out. 2013.

- LANZARINI, N. M. et al. Human adenovirus in municipal solid waste leachate and quantitative risk assessment of gastrointestinal illness to waste collectors. **Waste Management**, v. 138, p. 308–317, fev. 2022.
- LI, P. et al. Characteristics of microbial aerosol particles dispersed downwind from rural sanitation facilities: Size distribution, source tracking and exposure risk. **Environmental Research**, v. 195, p. 110798, abr. 2021.
- LIM, K.-Y.; HAMILTON, A. J.; JIANG, S. C. Assessment of public health risk associated with viral contamination in harvested urban stormwater for domestic applications. **Science of The Total Environment**, v. 523, p. 95–108, ago. 2015.
- LINDSLEY, W. et al. Sampling and characterization of bioaerosols. Em: **NIOSH Manual of analytical methods**. 5^a ed. Cincinnati: National Institute for Occupational Safety and Health, 2017.
- LIS, D. O.; GÓRNY, R. L. Haemophilus influenzae as an airborne contamination in child day care centers. **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 5, p. 438–442, maio 2013.
- LÓPEZ, A. et al. How does urban wastewater treatment affect the microbial quality of treated wastewater? **Process Safety and Environmental Protection**, v. 130, p. 22–30, out. 2019.
- LOU, M. et al. The bioaerosols emitted from toilet and wastewater treatment plant: a literature review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 3, p. 2509–2521, 1 jan. 2021.
- LUHUNG, I. et al. Protocol Improvements for Low Concentration DNA-Based Bioaerosol Sampling and Analysis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 11, p. e0141158, 30 nov. 2015.
- MADIGAN, M., T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.
- MALLACH, G. et al. Aerosol SARS-CoV-2 in hospitals and long-term care homes during the COVID-19 pandemic. **PLOS ONE**, v. 16, n. 9, p. e0258151, 30 set. 2021.
- MARA, D. D. et al. Health risks in wastewater irrigation: Comparing estimates from quantitative microbial risk analyses and epidemiological studies. **Journal of Water and Health**, v. 5, n. 1, p. 39–50, 1 set. 2006.
- MASCLAUX, F. G. et al. Assessment of airborne virus contamination in wastewater treatment plants. **Environmental Research**, v. 133, p. 260–265, 1 ago. 2014.
- MEDEMA, G. et al. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in Sewage and Correlation with Reported COVID-19 Prevalence in the Early Stage of the Epidemic in The Netherlands. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 7, n. 7, p. 511–516, 14 jul. 2020.
- MÉGRAUD, F. et al. Haemophilus species in the human gastrointestinal tract. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 7, n. 3, p. 437–438, jun. 1988.

MOMBA, M. et al. Using indicators to assess microbial treatment and disinfection efficacy. Em: ROSE, J. B.; JIMÉNEZ-CISNEROS, B. (Eds.). . **Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)**. (A.Farnleitner, and A. Blanch (eds), Part 2: Indicators and Microbial Source Tracking Markers). Michigan State University, E. Lansing, MI: UNESCO, 2019.

NCBI. **National Library of Medicine**. [s.d.]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 9 jul. 2022.

NIAZI, S. et al. Assessment of bioaerosol contamination (bacteria and fungi) in the largest urban wastewater treatment plant in the Middle East. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 20, p. 16014–16021, 1 out. 2015.

NING, T. et al. Potential intestinal infection and faecal-oral transmission of human coronaviruses. **Reviews in Medical Virology**, v. n/a, n. n/a, p. e2363, 2022.

OLIVER, S. E.; MORO, P.; BLAIN, A. E. Haemophilus influenzae type B. Em: **Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases**. 14. ed. Washington, D.C: Public Health Foundation, 2021. p. 14.

OLVER, F. W. J. et al. **DLMF: 13.2 Definitions and Basic Properties**. **NIST Digital Library of Mathematical Functions, Release 1.1.5 of 2022-03-15**, 2022. Disponível em: <<https://dlmf.nist.gov/13.2>>. Acesso em: 29 abr. 2022.

PALANIAPPAN, P. A. et al. Carriage of Haemophilus influenzae among children attending childcare centres in Kuala Lumpur, Malaysia in the post vaccination era: A cross-sectional study. **Vaccine**, v. 38, n. 51, p. 8232–8237, dez. 2020.

PAN, M.; LEDNICKY, J. A.; WU, C.-Y. Collection, particle sizing and detection of airborne viruses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 127, n. 6, p. 1596–1611, dez. 2019.

PASALARI, H. et al. Assessment of airborne enteric viruses emitted from wastewater treatment plant: Atmospheric dispersion model, quantitative microbial risk assessment, disease burden. **Environmental Pollution**, v. 253, p. 464–473, 1 out. 2019.

PASSOS, R. G.; SILVEIRA, M. B.; ABRAHÃO, J. S. Exploratory assessment of the occurrence of SARS-CoV-2 in aerosols in hospital facilities and public spaces of a metropolitan center in Brazil. **Environmental Research**, v. 195, p. 110808, abr. 2021.

PATZELT, D. et al. **Coronavirus Detection from Aerosols: PCR based Detection of SARS-CoV-2 from Gelatin Membrane Filter**. Sartorius, 20 nov. 2020. Disponível em: <<https://www.sartorius.hr/media/oejpkqi/covid-19-application-note-en-sartorius.pdf>>. Acesso em: 17 fev. 2022

POURAKBAR, M. et al. Comprehensive investigation of SARS-CoV-2 fate in wastewater and finding the virus transfer and destruction route through conventional activated sludge and sequencing batch reactor. **Science of The Total Environment**, v. 806, p. 151391, fev. 2022.

RAHMANI, A. R. et al. Sampling and detection of corona viruses in air: A mini review. **Science of The Total Environment**, v. 740, p. 140207, out. 2020.

RAJILIĆ-STOJANOVIĆ, M.; DE VOS, W. M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 38, n. 5, p. 996–1047, set. 2014.

RAMES, E. et al. Technical aspects of using human adenovirus as a viral water quality indicator. **Water Research**, v. 96, p. 308–326, jun. 2016.

ROCHA-MELOGNO, L. et al. Quantitative microbial risk assessment of outdoor aerosolized pathogens in cities with poor sanitation. **Science of The Total Environment**, v. 827, p. 154233, jun. 2022.

ROSE, J. B.; HAAS, C. N.; GERBA, C. P. Risk assessment for microbial contaminants in water. **Report for the AWWA Research Foundation, Denver, CO**, 1996.

RUSIÑOL, M.; GIRONES, R. Summary of Excreted and Waterborne Viruses. Em: ROSE, J. B.; JIMÉNEZ CISNEROS, B. (Eds.). . **Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)**. (J.S Meschke, and R. Girones (eds), Part 3: Specific Excreted Pathogens: Environmental and Epidemiology Aspects - Section 1: Viruses). Michigan State University, E. Lansing, MI: UNESCO, 2017.

SANTOS, A. L. DOS et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 413–423, dez. 2007.

SINGH, N. K. et al. A state-of-the-art review on WWTP associated bioaerosols: Microbial diversity, potential emission stages, dispersion factors, and control strategies. **Journal of Hazardous Materials**, p. 124686, 26 nov. 2020.

SLEKOVEC, C. et al. Tracking Down Antibiotic-Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolates in a Wastewater Network. **PLoS ONE**, v. 7, n. 12, p. e49300, 19 dez. 2012.

SOLLER, J. A. et al. Incidence of gastrointestinal illness following wet weather recreational exposures: Harmonization of quantitative microbial risk assessment with an epidemiologic investigation of surfers. **Water Research**, v. 121, p. 280–289, set. 2017.

SZULC, J. et al. Microbiological and Toxicological Hazards in Sewage Treatment Plant Bioaerosol and Dust. **Toxins**, v. 13, n. 10, p. 691, out. 2021.

TEUNIS, P.; SCHIJVEN, J.; RUTJES, S. A generalized dose-response relationship for adenovirus infection and illness by exposure pathway. **Epidemiology & Infection**, v. 144, n. 16, p. 3461–3473, dez. 2016.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Exposure Factors Handbook 2011 Edition (Final Report)**. Washington, DC: National Center for Environmental Assessment, 2011. Disponível em: <<https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=236252>>. Acesso em: 23 abr. 2022.

- VAN DOREMALEN, N. et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 16, p. 1564–1567, 16 abr. 2020.
- VERBYLA, M. E. et al. Managing Microbial Risks from Indirect Wastewater Reuse for Irrigation in Urbanizing Watersheds. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 13, p. 6803–6813, 5 jul. 2016.
- VERGARA, G. G. R. V.; ROSE, J. B.; GIN, K. Y. H. Risk assessment of noroviruses and human adenoviruses in recreational surface waters. **Water Research**, v. 103, p. 276–282, out. 2016.
- VERREAULT, D.; MOINEAU, S.; DUCHAINE, C. Methods for sampling of airborne viruses. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR**, v. 72, n. 3, p. 413–444, set. 2008.
- VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. DE L. **Biological wastewater treatment in warm climate regions**. London: IWA publishing, 2005.
- WANG, C.-H. et al. Field Evaluation of Personal Sampling Methods for Multiple Bioaerosols. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0120308, 23 mar. 2015.
- WANG, M.; YAO, M.; ZHU, Y. Antibiotic resistance genes and antibiotic sensitivity in bacterial aerosols and their comparisons with known respiratory pathogens. **Journal of Aerosol Science**, v. 161, p. 105931, mar. 2022.
- WHEATER, D. et al. Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli in sewage and fresh water. **Water Research**, v. 14, n. 7, p. 713–721, 1980.
- WHO. **Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS)**. [s.l.] World Health Organization, 2003. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/70863>>. Acesso em: 3 jul. 2022.
- WHO. **Quantitative Microbial Risk Assessment: Application for Water Safety Management**. [s.l.] World Health Organization, 2016.
- WHO. **Guidelines on sanitation and health**. Geneva: World Health Organization, 2018.
- WHO. **COVID-19 - China**. 12 jan. 2020a. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2020-DON233>>. Acesso em: 25 jun. 2022.
- WHO. **Mask use in the context of COVID-19**. [s.l.] World Health Organization, 1 dez. 2020b.
- WHO. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. 2022. Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 22 jun. 2022.
- WU, J. et al. Estimating acceptable exposure time for bioaerosols emission in a wastewater treatment plant by reverse quantitative microbial risk assessment based on various risk

benchmarks. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 9, p. 13345–13355, fev. 2022.

XIE, G. et al. Guidelines for Use of the Approximate Beta-Poisson Dose–Response Model. **Risk Analysis**, v. 37, n. 7, p. 1388–1402, jul. 2017.

YAN, C.; LENG, Y.; WU, J. Quantitative microbial risk assessment for occupational health of temporary entrants and staffs equipped with various grade PPE and exposed to microbial bioaerosols in two WWTPs. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, 15 mar. 2021.

YAN, C.; WANG, R.; ZHAO, X. Emission characteristics of bioaerosol and quantitative microbiological risk assessment for equipping individuals with various personal protective equipment in a WWTP. **Chemosphere**, v. 265, p. 129117, fev. 2021.

YANG, K. et al. Airborne bacteria in a wastewater treatment plant: Emission characterization, source analysis and health risk assessment. **Water Research**, v. 149, p. 596–606, 1 fev. 2019a.

YANG, T. et al. Aerosols from a wastewater treatment plant using oxidation ditch process: Characteristics, source apportionment, and exposure risks. **Environmental Pollution**, v. 250, p. 627–638, 1 jul. 2019b.

YANG, T. et al. Characteristics and exposure risks of potential pathogens and toxic metal(loid)s in aerosols from wastewater treatment plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 183, p. 109543, nov. 2019c.

YANG, T. et al. Linking aerosol characteristics of size distributions, core potential pathogens and toxic metal(loid)s to wastewater treatment process. **Environmental Pollution**, v. 264, p. 114741, set. 2020.

YANG, T. et al. Characteristics of size-segregated aerosols emitted from an aerobic moving bed biofilm reactor at a full-scale wastewater treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, p. 125833, ago. 2021.

YATES, M. V. Persistence of Pathogenic Microorganisms in Fecal Wastes and Wastewater Matrices: An Introduction and Overview of Data Considerations. Em: ROSE, J. B.; JIMÉNEZ-CISNEROS, B. (Eds.). . **Water and Sanitation for the 21st Century: Health and Microbiological Aspects of Excreta and Wastewater Management (Global Water Pathogen Project)**. (M. Yates (eds), Part 4: Management of Risk from Excreta and Wastewater - Section: Persistence). Michigan State University, E. Lansing, MI: UNESCO, 2017.

ZAIONTZ, C. **Real Statistics Using Excel**. 2022. Disponível em: <<https://www.real-statistics.com/>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

ZANETI, R. N. et al. Quantitative microbial risk assessment of SARS-CoV-2 for workers in wastewater treatment plants. **Science of The Total Environment**, v. 754, 1 fev. 2021.