

*Eu, Bruna Carolina Pimentel Duarte, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009010666, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.*

*Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à excepção das minhas opiniões pessoais.*

*Coimbra, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.*

---

*(Bruna Carolina Pimentel Duarte)*

Coimbra, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

A Tutora,

---

*(Professora Doutora Ana Miguel Duarte Matos Silva)*

## **ÍNDICE**

ABREVIATURAS.....	1
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>2. VÍRUS POTENCIALMENTE PRESENTES NAS ÁGUAS.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. ADENOVÍRUS HUMANOS.....</b>	<b>6</b>
<b>2.2. ASTROVÍRUS HUMANOS.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3. CALICIVÍRUS HUMANOS.....</b>	<b>8</b>
2.3.1. Norovírus.....	8
2.3.2. Sapovírus.....	8
<b>2.4. ENTEROVÍRUS HUMANOS.....</b>	<b>9</b>
<b>2.5. VÍRUS DA HEPATITE A.....</b>	<b>9</b>
<b>2.6. VÍRUS DA HEPATITE E.....</b>	<b>10</b>
<b>2.7. ROTAVÍRUS HUMANOS.....</b>	<b>11</b>
<b>2.8. VÍRUS COM MENOR RELEVÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA: POLIOMA- VÍRUS HUMANOS.....</b>	<b>11</b>
<b>3. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE VÍRUS EM DIFERENTES TIPOS DE ÁGUAS E COMPARAÇÃO COM OS INDICADORES MICROBIOLÓGICOS COMUNS.....</b>	<b>12</b>
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>17</b>
<b>5. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>18</b>

## **ABREVIATURAS**

DNA – *Deoxyribonucleic acid*

dsDNA – *double-stranded DNA*

g – Grama

IgM – Imunoglobulina M

IgG – Imunoglobulina G

L – Litro

mL – Mililitro

nm – Nanómetros

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

PyV – *Polyomavirus*

qPCR – *Quantitative PCR*

RNA – *Ribonucleic acid*

ssRNA – *single-stranded RNA*

UV – Ultravioleta

VHA – Vírus da Hepatite A

VHE – Vírus da Hepatite E

(+) – Polaridade positiva

## **I. INTRODUÇÃO**

O acesso adequado a fontes seguras de água para consumo humano é um direito elementar e fundamental à vida, relacionando-se com políticas eficazes de protecção de saúde. Neste sentido, os riscos microbiológicos, a par dos químicos e radiológicos, associados às mesmas, continuam a representar uma das principais preocupações, tanto nos países em desenvolvimento como nos desenvolvidos, dado os seus impactos na saúde, economia e sociedade. (Szabo & Minamyer, 2014; WHO, 2008, pp. xv, xvi, 1, 3, 12, 22, 35)

As doenças transmitidas pela água podem estar associadas à exposição a diversos microrganismos – bactérias, vírus e parasitas (La Rosa, Fratini, Libera, Iaconelli, & Muscillo, 2012; WHO, 2008, p. 121) presentes em diferentes tipos de água (subterrâneas, de consumo, balneares, utilizadas no processamento de alimentos/outras actividades industriais e na agricultura para irrigação de campos e pecuária), tratada ou não tratada (Gibson, 2014; Grabow, 2007). Porém, é difícil avaliar o seu impacto global, tendo em conta as limitações da informação disponível, a existência de múltiplas variáveis, as lacunas dos estudos epidemiológicos, entre outras (Grabow, 2007).

John A. Toomey, em 1945, foi o primeiro a demonstrar a transmissão de vírus pela água, ao ceder a água de um riacho, contaminada com o vírus da poliomielite, a ratinhos que posteriormente ficaram infectados (Cashdollar & Wymer, 2013).

Os vírus potencialmente transmitidos através da água pertencem, na sua maioria, ao grupo dos vírus entéricos e são potenciais causadores de diversas patologias humanas (Gibson, 2014), cuja severidade é também variável. As do foro gastrointestinal encontram-se entre as mais frequentes (Gibson, 2014; La Rosa et al., 2012), apesar de muitas vezes não serem reportadas e a sua significância ser pouco reconhecida (Grabow, 2007). Podem também desencadear alguns sintomas respiratórios, conjuntivites, hepatites, infecções do sistema nervoso central (meningite asséptica, poliomielite), síndromes musculares (fibromialgia, miocardite) e doenças crónicas (diabetes e síndrome de fadiga crónica) (La Rosa et al., 2012).

Apesar de serem parasitas intracelulares obrigatórios e, por isso, não conseguirem replicar-se na água, os vírus podem sobreviver nesse meio durante longos períodos de tempo, superiores aos da maioria das bactérias, sendo que apresentam, também, maior resistência à desinfecção (La Rosa et al., 2012; WHO, 2008, pp. 29, 124).

Para além disso, os sistemas de tratamento presentemente utilizados não asseguram a remoção completa dos diferentes vírus. Eliminam apenas 20 a 80% dos vírus entéricos presentes nas águas residuais, permitindo a sua libertação na descarga de efluentes que contaminam os respectivos ambientes aquáticos. Deste modo, a sua concentração pode ser

suficientemente elevada para representar um risco para a saúde pública, mas relativamente baixa para detecção. (Bosch, Guix, Sano, & Pintó, 2008; La Rosa et al., 2012)

No entanto, considerando o referido, os mesmos não constam dos parâmetros indicadores de qualidade microbiológica das águas incluídos na legislação em vigor, na Europa (Parlamento Europeu, 1991, 1998, 2006). Assim, esta revisão tem como principais objectivos a análise dos vírus potencialmente presentes em diferentes tipos de águas, bem como a comparação com indicadores microbiológicos comuns (*E. coli* e enterococos).

## **2. VÍRUS POTENCIALMENTE PRESENTES NAS ÁGUAS**

A ocorrência de microrganismos indicadores de contaminação fecal nas fontes de água, quer sejam superficiais ou subterrâneas, deve-se essencialmente a factores como as características físico-químicas da área de captação, introdução de fezes (humanas ou animais) na sua origem e ao tratamento inadequado ou insuficiente da água destinada ao consumo humano. (Gibson, 2014; Schwab, Leon, & Sobsey, 1995; WHO, 2008, p. 136)

As águas subterrâneas são uma importante fonte de água de consumo, em muitas regiões do mundo. Normalmente, considera-se que apresentam uma composição mais estável e melhor qualidade microbiana do que as águas superficiais, mais vulneráveis às diversas actividades humanas. O tamanho dos vírus entéricos (20-100 nm) pode explicar a sua presença nessas águas mais profundas, ao permitir a passagem através dos poros dos sedimentos que retêm microrganismos maiores, como bactérias e protozoários. (Ogorzaly, Bertrand, Paris, Maul, & Gantzer, 2010)

A quantidade de vírus entéricos infecciosos presentes numa água é, frequentemente, difícil de analisar, devido às suas baixas concentrações em ambientes aquáticos, à inespecificidade dos métodos disponíveis para distinguir partículas infecciosas das não infecciosas e à presença de substâncias inibitórias, nessa água, no decorrer dos processos de extracção e amplificação (Imai et al., 2011).

A Tabela I apresenta os vírus melhor conhecidos e com maior relevância para qualidade da água, bem como para a saúde pública, por serem excretados nas fezes e por a sua ocorrência em ambientes aquáticos poluídos estar bem estabelecida (Grabow, 2007).

De acordo com diversas fontes bibliográficas, inclusive WHO (2008, p. 122) e Grabow et al. (2007), estes incluem os adenovírus, astrovírus, calicivírus, enterovírus, vírus da Hepatite A, vírus da Hepatite E e rotavírus. Pertencentes ao grupo dos vírus entéricos, estes vírus não envelopados (Tabela I) apresentam estabilidade ambiental durante longos períodos de

tempo, quer em alimentos, águas, mãos ou outras superfícies (Gibson, 2014; Kotwal & Cannon, 2014; La Rosa et al., 2012).

**Tabela I – Vírus potencialmente presentes nas águas, com maior relevância epidemiológica**

FAMÍLIA	GÉNERO / ESPÉCIE	GENOMA	ESTRUTURA	OUTRAS CARACTERÍSTICAS
<i>Adenoviridae</i>	<b>Mastadenovirus</b> Adenovirus humanos	dsDNA linear	Cápside icosaédrica ≈80 nm Não Envelopados	51 serótipos; Ubíquos; CCL4
<i>Astroviridae</i>	<b>Mamastrovirus</b> Astrovirus humanos	(+)ssRNA	Cápside icosaédrica ≈28 nm Não Envelopados	8 serótipos; Pico incidência: Inverno
<i>Caliciviridae</i>	<b>Norovirus</b> <b>Sapovirus</b>	(+)ssRNA	Cápside icosaédrica 35-40 nm Não Envelopados	Estrutura “Cup-like”; CCL4
<i>Picornaviridae</i>	<b>Enterovirus humanos</b> Poliovirus Echovirus Coxsackievirus	(+)ssRNA	Cápside icosaédrica 20-30 nm Não Envelopados	69 serótipos; Muitos pequenos; CCL4
	<b>Hepatovirus</b> VHA	(+)ssRNA	Cápside icosaédrica 20-30 nm Não Envelopados	Ubíquos; Imunidade prolongada; CCL4
<i>Hepeviridae</i>	<b>Hepevirus</b> VHE	(+)ssRNA	Cápside icosaédrica 27-34 nm Não Envelopados	Varição antigénica; Imunidade prolongada
<i>Reoviridae</i>	<b>Rotavirus</b>	dsRNA 11 segmentos	Cápside icosaédrica ≈75 nm Não Envelopados	7 serótipos; Aspecto de “roda”

CCL4 – *Integram a Contaminant Candidate List 4* (EPA, 2015)

Após a transmissão, que depende da interacção com o hospedeiro e da sobrevivência<sup>A</sup> perante as condições ambientais (Rzezutka & Cook, 2004), infectam o tracto gastrointestinal e são posteriormente excretados nas fezes de indivíduos infectados (Grabow, 2007).

A elevada especificidade dos vírus entéricos para o hospedeiro sugere que a sua presença nos ambientes aquáticos evidencie contaminação fecal humana. Contudo, a excreção através das fezes e consequente contaminação/detecção na água não significa que o vírus entérico se transmita, obrigatoriamente, por essa via. (Grabow, 2007)

A Tabela 2 sintetiza a excreção, ocorrência, transmissão e significância dos vírus apresentados na Tabela I. Verifica-se que, para além de altamente infecciosos<sup>B</sup>, persistem na água a 20°C durante longos períodos de tempo<sup>C</sup> e apresentam elevada resistência à desinfecção<sup>D</sup> (WHO, 2008, p. 122).

A infecciosidade viral pode ser descrita como a “capacidade dos vírus para entrar na célula hospedeira e utilizar todos os recursos para produzir novos viriões”. A mesma é afectada

<sup>A</sup> Rzezutka & Cook (2004) definem sobrevivência como a persistência natural de vírus infecciosos, aos quais não se aplicou processo de tratamento com vista à sua eliminação.

<sup>B</sup> Apresentam doses infecciosas entre 1 e 10 partículas virais. (WHO, 2008, p. 122)

<sup>C</sup> Superiores a 1 mês. (WHO, 2008, p. 122)

<sup>D</sup> Resistência moderada ao tratamento com cloro – 1 a 30 minutos, perante as doses e tempos de contacto convencionais, a pH 7-8. (WHO, 2008, p. 122)

pela integridade da cápside que protege o genoma de possível degradação por nucleases, stress abiótico, humidade, pH, radiação UV, temperatura e desinfetantes de cada água. (Rodríguez, Pepper, & Gerba, 2009)

**Tabela 2 – Outras características dos vírus potencialmente presentes nas águas**

*Adaptado de WHO (2008, p. 122)*

<b>VÍRUS</b>	<b>EXCREÇÃO</b>	<b>OCORRÊNCIA</b>	<b>TRANSMISSÃO</b>	<b>SIGNIFICÂNCIA (TAC<sup>1</sup>)</b>	<b>OUTRAS REFERÊNCIAS</b>
<b>Adenovírus humanos</b>	Fezes humanas	Fontes de água Águas de consumo Ambientes marinhos Rios e lagos/lagoas Águas residuais	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa Águas/alimentos contaminados* Fómites	NÃO CONFIRMADA	(Griffin et al., 2003) (Vieira et al., 2012) (Hundesa et al., 2006)
<b>Astrovírus humanos</b>	Fezes humanas	Fontes de água Águas de consumo Águas superficiais Águas residuais	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa Águas/alimentos contaminados*	NÃO CONFIRMADA	(Chapron et al., 2000)
<b>Norovírus</b>	Fezes humanas	Águas subterrâneas Águas de consumo Alimentos Ambientes marinhos Rios e lagos/lagoas Águas residuais	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa Águas/alimentos contaminados Inalação de aerossóis	CONFIRMADA	(Griffin, Donaldson, Paul, & Rose, 2003) (Vieira et al., 2012) (Bertrand et al., 2012) (Ogorzaly et al., 2010)
<b>Sapovírus</b>	Fezes humanas	Águas de consumo Alimentos Águas residuais	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa Águas/alimentos contaminados Inalação de aerossóis	CONFIRMADA	
<b>Enterovírus</b>	Fezes humanas	Águas subterrâneas Águas de consumo Alimentos Ambientes marinhos Rios Águas residuais	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa Águas/alimentos contaminados Inalação de aerossóis	NÃO CONFIRMADA (apenas 2 surtos - lagos)	(Griffin et al., 2003) (Rajtar et al., 2008) (Ogorzaly et al., 2010)
<b>VHA</b>	Fezes humanas	Águas subterrâneas Águas de consumo Alimentos Ambientes marinhos	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa Águas/alimentos contaminados Via parenteral (rara)	CONFIRMADA; BEM ESTABELECIDADA	(Griffin et al., 2003) (Bertrand et al., 2012) (Ogorzaly et al., 2010)
<b>VHE</b>	Fezes humanas	Águas de consumo Alimentos Rios Águas residuais	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa (pouco comum) Águas/alimentos contaminados Parentérica Vertical	CONFIRMADA; BEM ESTABELECIDADA	(Mohammad, Tahaei, Mohebbi, & Zali, 2012)
<b>Rotavírus</b>	Fezes humanas (>10 <sup>11</sup> /g, >8 dias)	Águas subterrâneas Águas de consumo Rios e lagos/lagoas Águas residuais	Fecal/oral Pessoa-a-pessoa Águas/alimentos contaminados Inalação aerossóis	CONFIRMADA (surto documentado)	(Vieira et al., 2012) (Bertrand et al., 2012) (Ogorzaly et al., 2010)

<sup>1</sup>TAC – Transmissão pela água de consumo humano; \* não há evidência clara.

A ocorrência em águas marinhas é responsável por muito poucos surtos documentados (Griffin et al., 2003)

Para além disso, vírus ligados a partículas, como detritos orgânicos ou partículas inorgânicas do solo, apresentam maior probabilidade de causar doença do que os vírus livres (Griffin et al., 2003). A composição da água é determinante para as taxas de inativação viral e limita a



extrapolação de resultados obtidos a partir de amostras com diferentes condições. Na água do rio em estudo por Schernewski & Jülich (2001), as partículas suspensas, presentes em elevadas concentrações, funcionaram como transportadoras dos vírus. Assim, os vírus livres apresentaram uma taxa de eliminação muito superior à dos vírus ligados a partículas suspensas.

A temperatura é largamente identificada como o factor preponderante na inactivação viral, no meio ambiente (Bertrand et al., 2012). Num estudo realizado por Bertrand et al. (2012), a mesma decorreu mais rapidamente com as temperaturas elevadas do que com as baixas. A inactivação de vírus com genoma de DNA pareceu decorrer de forma mais lenta.

Hijnen, Beerendonk, & Medema (2006) demonstraram que os vírus, especialmente os adenovírus<sup>E</sup> e os esporos bacterianos representam os microrganismos mais resistentes à radiação UV. Apesar disso, esta é considerada como altamente efectiva contra todos os microrganismos patogénicos, sejam vírus, bactérias ou protozoários (Hijnen et al., 2006).

O cloro e a monocloramina são dos desinfectantes mais frequentemente utilizados no tratamento da água. O cloro livre é utilizado como desinfectante primário, associado à filtração e desinfectante secundário, nos sistemas de distribuição. A sua eficácia na inactivação viral tem sido abordada em inúmeros estudos, ao longo dos anos. O processo de desinfecção deve ter em conta algumas variáveis: tempo de contacto, temperatura, força iónica, pH, concentração de cloro e agregação das partículas virais. A monocloramina tem sido considerada menos eficaz que o cloro livre no processo de inactivação dos vírus. (Cromeans, Kahler, & Hill, 2010)

## 2.1. ADENOVÍRUS HUMANOS

Os adenovírus humanos pertencem à família *Adenoviridae* e ao género *Mastadenovirus*. Ubíquos na natureza, incluem 52 serótipos (Eischeid, Meyer, & Linden, 2009) e apresentam genoma dsDNA linear, cápside icosaédrica não envelopada, com cerca de 80 nm e fibras características. (Grabow, 2007; Hundesa et al., 2006; La Rosa et al., 2012)

São excretados, em grande quantidade, nas fezes de indivíduos infectados, na ordem dos  $10^{11}$  viriões/g (Grabow, 2007), ocorrendo em rios e lagos (Vieira et al., 2012), em ambientes marinhos (Griffin et al., 2003), nas águas residuais (Hundesa et al., 2006), bem como nas fontes e águas de consumo humano (WHO, 2008, pp. 248–249).

Excepcionalmente resistentes aos processos de tratamento e desinfecção com cloro (Fongaro et al., 2013), representam, actualmente, a classe de vírus mais resistente à radiação UV, pelo que são reconhecidos como padrões no que respeita aos requisitos de inactivação

---

<sup>E</sup> Adenovírus 40 e 41 - MIC<sub>max</sub>(log)=6.4

viral por UV, nos processos de tratamento da água (Eischeid et al., 2009). Apresentam melhor estabilidade térmica do que os enterovírus, sobrevivendo durante meses na água, especialmente a baixas temperaturas (Corrêa et al., 2012).

A transmissão ocorre por via fecal-oral, maioritariamente, pessoa-a-pessoa, mas também através de fômites. Apesar de o consumo de água e alimentos contaminados representar um possível meio de transmissão, não existe evidência clara que o suporte, dado que os surtos confirmados se limitaram à manifestação de faringites e/ou conjuntivites, perante exposição à água de piscinas. (WHO, 2008, pp. 248–249)

Baixas doses infecciosas podem provocar diversas infecções com manifestações clínicas heterogêneas, entre as quais gastrointestinais (gastroenterites), respiratórias (doenças respiratórias agudas, pneumonias...), urinárias (cervicites, uretrites, cistites hemorrágicas) e oculares (queratoconjuntivites e febre faringo-conjuntival) (La Rosa et al., 2012; WHO, 2008, pp. 248–249). Os adenovírus humanos 40 e 41 representam a segunda causa de gastroenterites infantis, a nível mundial (Fongaro et al., 2013).

## 2.2. **ASTROVÍRUS HUMANOS**

A família *Astroviridae* possui 8 tipos de astrovírus humanos descritos e pertencentes ao género *Mamastrovirus*, sendo que o serotipo I é o mais comumente identificado. Apresentam genoma ssRNA de polaridade positiva, cápside icosaédrica não envelopada, com cerca de 28 nm de diâmetro e conformação característica “Star of David”, ao microscópio electrónico. (Bosch, Pintó, & Guix, 2014; Grabow, 2007; WHO, 2008, pp. 250–251)

Os astrovírus humanos são excretados em quantidades substanciais nas fezes de indivíduos infectados. Assim, ocorrem em águas residuais e já foram detectados em fontes de água, águas de consumo e águas superficiais. (Chapron et al., 2000; Grabow, 2007; WHO, 2008, pp. 250–251)

Temperaturas elevadas e a presença de cloro livre nas águas reduzem a sobrevivência dos astrovírus (Abad, Pintó, Villena, Gajardo, & Bosch, 1997).

A transmissão ocorre por via fecal-oral, mais frequentemente pessoa-a-pessoa, sendo que a ingestão de água e alimentos contaminados também podem ser importantes. Os surtos têm sido associados ao consumo de água do rio poluída com fezes e marisco contaminado por águas residuais. (Chapron et al., 2000) Apesar da sua ocorrência em águas de consumo, a transmissão por essa via não se encontra confirmada (WHO, 2008, pp. 250–251).

Provocam gastroenterites autolimitadas e de curta duração, com pico de incidência no Inverno e, maioritariamente, em crianças com menos de 5 anos e em idosos, apesar de

também terem sido reportados casos em adultos (Grabow, 2007; WHO, 2008, pp. 250–251).

### 2.3. CALICIVÍRUS HUMANOS

A família *Caliciviridae* inclui 4 géneros, dos quais 2 infectam tipicamente o Homem – Norovírus (*Norwalk-like viruses*) e Sapovírus (*Sapporo-like viruses*). Apresentam genoma ssRNA de polaridade positiva, cápside icosaédrica não envelopada (35-40 nm) e morfologia de superfície “cup-like”. (Grabow, 2007; Schwab, 2007)

Extremamente difíceis de detectar, os calicivírus humanos transmitem-se pela via fecal-oral e são excretados nas fezes de indivíduos infectados. Inúmeros surtos evidenciam a sua transmissão pela água de consumo. (WHO, 2008, pp. 251–252)

#### 2.3.1. Norovírus

Os norovírus humanos assemelham-se a outros calicivírus, apresentando ssRNA de polaridade positiva e cápside não envelopada. Distinguem-se em 5 grupos genéticos (GI, GII, GIII, GIV e GV), dos quais os GI, GII e GIV infectam o Homem. (La Rosa et al., 2012; Schwab, 2007)

Ocorrem em águas subterrâneas, águas de consumo, ambientes marinhos, rios e lagos/lagoas e águas residuais (Bertrand et al., 2012; Griffin et al., 2003; Ogorzaly et al., 2010; Vieira et al., 2012; WHO, 2008, pp. 251–252).

Transmitem-se por via fecal-oral, mais frequentemente, pessoa-a-pessoa, apesar de o contágio por ingestão de água e alimentos contaminados também ser bastante frequente (Kotwal & Cannon, 2014), bem como a inalação de aerossóis (Grabow, 2007).

Representam, a nível mundial, a principal causa de gastroenterites epidémicas não bacterianas (La Rosa et al., 2012), de gastroenterites virais no adulto (Bosch et al., 2008), bem como uma importante causa de gastroenterites esporádicas, em adultos e crianças (La Rosa et al., 2012).

#### 2.3.2. Sapovírus

Os sapovírus humanos apresentam a morfologia da família, com genoma ssRNA de polaridade positiva não segmentado. Denominados calicivírus clássicos, subdividem-se em múltiplos genogrupos e genótipos (GI.1-7, GII.1-7, GIV.1 e GV.1), que ocorrem em alimentos, águas residuais e de consumo. (Oka et al., 2012; WHO, 2008, pp. 251–252)

Infectam indivíduos de todas as idades, tanto em casos esporádicos como em surtos. Os sintomas de gastroenterite são indistinguíveis dos provocados pelos norovírus. (Oka, Wang, Katayama, & Saif, 2015)

## 2.4. ENTEROVÍRUS HUMANOS

Os enterovírus humanos pertencem ao género *Enterovirus* da família *Picornaviridae*, que possui 69 serótipos que infectam o Homem: poliovírus (tipos 1–3), coxsackievírus (tipos A1–A24), coxsackievírus (tipos B1–B6), ecovírus (tipos 1–33) e os enterovírus (tipos EV68–EV73) (WHO, 2008, pp. 253–254). Apresentam genoma ssRNA, de polaridade positiva, com cápside icosaédrica não envelopada e cerca de 27-30 nm (Rajtar et al., 2008).

São excretados nas fezes de indivíduos infectados e ocorrem em águas subterrâneas, águas de consumo, em muitos alimentos, ambientes marinhos, rios e águas residuais (Griffin et al., 2003; Ogorzaly et al., 2010; Rajtar et al., 2008; WHO, 2008, pp. 253–254).

Resistem às condições do tracto gastrointestinal – pH entre 3 e 5, durante 1 a 3 horas, não sendo susceptíveis às enzimas proteolíticas nem aos sais biliares. Em ambientes externos, são altamente resistentes ao tratamento com cloro, bem como a salinidade e flutuações de temperatura, o que facilita a sobrevivência no meio aquático. Podem ser eliminados com temperaturas superiores a 50°C. (Rajtar et al., 2008)

Transmitem-se, predominantemente, por via fecal-oral pessoa-a-pessoa (por exemplo, através do contacto directo com secreções de lesões oftálmicas/dérmicas) e inalação de aerossóis, mas também através do contacto com água, alimentos e solos contaminados (Rajtar et al., 2008). A transmissão pela água de consumo não se encontra confirmada (WHO, 2008, pp. 253–254).

Representam uma das causas mais comuns de infecções humanas que se desenvolvem geralmente de forma assintomática, particularmente nas crianças. Nos casos sintomáticos, podem associar-se a um largo espectro patológico, incluindo miocardites, meningoencefalites, poliomielite (quase erradicada com a vacinação), conjuntivite hemorrágica, entre outras. (Grabow, 2007; WHO, 2008, pp. 253–254) A maioria das infecções associa-se à produção de IgM que perdura cerca de 6 meses e de IgG detectável por mais de 2 anos. Normalmente, os indivíduos infectados desenvolvem imunidade adquirida, específica de serótipo, que persiste durante toda a vida. (Rajtar et al., 2008)

## 2.5. VÍRUS DA HEPATITE A

O vírus da Hepatite A (VHA) é a única espécie do género *Hepatovirus* na família *Picornaviridae*, partilhando as características estruturais e morfológicas básicas com os enterovírus – ssRNA de polaridade positiva e cápside icosaédrica não envelopada, com cerca de 27-32 nm de diâmetro (Mohammad et al., 2012).

É excretado nas fezes de indivíduos infectados, ocorrendo em águas subterrâneas, água de consumo, ambientes marinhos e alimentos (Bertrand et al., 2012; Griffin et al., 2003; Ogorzaly et al., 2010; WHO, 2008, pp. 254–255).

Para além da via fecal-oral pessoa-a-pessoa, que é provavelmente a mais frequente, a transmissão pode ocorrer através do consumo de água e alimentos contaminados, bem como por via parenteral (rara). A transmissão pela água de consumo encontra-se bem estabelecida pela associação a inúmeros surtos, sendo esta evidência epidemiológica mais forte para o VHA do que para qualquer outro vírus. (Grabow, 2007; Mohammad et al., 2012; WHO, 2008, pp. 254–255)

O VHA provoca a Hepatite A, com uma dose infecciosa considerada baixa. Em cerca de 90% dos casos, particularmente em crianças, as lesões hepáticas resolvem lentamente sem sintomatologia clínica, desenvolvendo-se imunidade prolongada. A severidade das lesões aumenta com a idade. (WHO, 2008, pp. 254–255) Não obstante a sua distribuição mundial, a prevalência da patologia possui distribuição geográfica característica. Nas zonas endémicas, ocorre, normalmente, nos primeiros 10 anos de vida. (Mohammad et al., 2012) Por outro lado, o número de casos reportados tem decrescido substancialmente nos países com altos padrões de higiene e programas de imunização efectivos, onde pode causar infecções tardias ao longo da vida, com o risco de consequências mais severas. (Bertrand et al., 2012; La Rosa et al., 2012)

## 2.6. VÍRUS DA HEPATITE E

O vírus da Hepatite E representa a única espécie do género *Hepevirus*, pertencente à família *Hepeviridae*. Apresenta ssRNA de polaridade positiva, cápside icosaédrica não envelopada com cerca de 27-34 nm. Dentro do mesmo serótipo distinguem-se 4 genótipos major - GI e GII que infectam apenas o Homem, predominantemente por consumo de água contaminada (Van der Poel, 2014), enquanto GIII e GIV são zoonóticos. Assim, este é o único vírus entérico com reservatório animal significativo. (Grabow, 2007; La Rosa et al., 2012; WHO, 2008, pp. 256–257)

O VHE é excretado nas fezes de indivíduos infectados e ocorre em águas de consumo, alimentos, rios e águas residuais (Mohammad et al., 2012; WHO, 2008, pp. 256–257).

Normalmente, é transmitido pela via fecal-oral através do consumo de água, bem como por alimentos contaminados, pela via parentérica e vertical (Mohammad et al., 2012). A transmissão pela água de consumo é evidenciada por inúmeros surtos documentados. Em contrapartida, a transmissão directa pessoa-a-pessoa parece ser pouco relevante no desenvolvimento de Hepatite E (WHO, 2008, pp. 256–257).

Apesar de esta patologia, endémica em alguns países em desenvolvimento<sup>F</sup>, ser menos frequente do que a Hepatite A, associa-se a uma taxa de mortalidade superior, particularmente em grávidas. O período de incubação varia entre 14 e 63 dias, sendo superior ao da Hepatite A - 2 a 6 semanas (Gilroy, 2015). Ambos induzem imunidade prolongada. (Grabow, 2007; La Rosa et al., 2012; WHO, 2008, pp. 256–257)

## 2.7. ROTAVÍRUS HUMANOS

O género *Rotavirus* pertence à família *Reoviridae*, incluindo 7 serótipos (A - G). Possui 11 segmentos de dsRNA, cápside icosaédrica não envelopada e aproximadamente 75 nm, assemelhando-se à aparência de uma roda. Os serótipos A – C associam-se a infecção humana e, mais especificamente, os patógenos do Grupo A. (Schwab, 2007)

Os rotavírus humanos são excretados nas fezes de indivíduos infectados, na ordem de  $10^{11}$  a  $10^{12}$  viriões/g, durante aproximadamente 8 dias. Assim, têm sido detectados em águas subterrâneas, águas de consumo, rios e lagos/lagoas, bem como em águas residuais. (Bertrand et al., 2012; Ogorzaly et al., 2010; Schwab, 2007; Vieira et al., 2012)

São altamente infecciosos e transmitidos por via fecal-oral. O contacto pessoa-a-pessoa e a inalação de aerossóis parecem desempenhar um papel mais importante que a ingestão de água e alimentos contaminados. Apesar de esta última não ser a mais frequente, a transmissão de rotavírus pela água de consumo encontra-se documentada por inúmeros surtos. (Grabow, 2007; WHO, 2008, pp. 257–258)

Os rotavírus humanos representam a principal causa de gastroenterites infantis (Bosch et al., 2008; Vieira et al., 2012) e de morte infantil, no mundo, sendo responsáveis por aproximadamente 50 a 60% dos casos de gastroenterites em crianças hospitalizadas (Schwab, 2007; WHO, 2008, pp. 257–258).

## 2.8. VÍRUS COM MENOR RELEVÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA: POLIOMAVÍRUS HUMANOS

Actualmente, os poliomavírus pertencem ao género *Polyomavirus* da família *Polyomaviridae*. Apesar de abundantes e com uma estrutura organizacional altamente conservada, apresentam elevada especificidade para a célula hospedeira (Dalianis & Hirsch, 2013). Os viriões são partículas icosaédricas não envelopadas, com cerca de 40-45 nm de diâmetro e possuem dsDNA circular superenrolado e fechado por ligações covalentes, que se assemelha a um minicromossoma, envolto em histonas derivadas da célula hospedeira. São estáveis a altas temperaturas, demonstrando baixa perda de infecciosidade. Infectam diferentes

---

<sup>F</sup> Índia, Nepal, Ásia Central, México e algumas zonas de África. (WHO, 2008)

espécies de vertebrados como roedores, aves, coelhos, gado, Homem e primatas não humanos. (Dalianis & Hirsch, 2013; Hundesa et al., 2006)

Os primeiros poliomavírus humanos descobertos - JC e BK - foram denominados com as iniciais dos doentes a partir dos quais foram isolados, em 1971 e apresentam 75% de identidade genómica. Apesar de normalmente não patogénicos (McQuaig, Griffith, & Harwooda, 2012), podem produzir infecção persistente no Homem e são frequentemente excretados na urina e fezes de indivíduos saudáveis - especialmente o vírus JC. (Bofill-Mas, Rodriguez-Manzano, Calgua, Carratala, & Girones, 2010; Corrêa et al., 2012; Dalianis & Hirsch, 2013; Hundesa et al., 2006; McQuaig, Scott, Lukasik, Paul, & Harwood, 2009)

Para além de já terem sido detectados em fontes de água e rios (Corrêa et al., 2012), os PyV JC e BK têm sido reportados como muito prevalentes nas amostras de águas residuais, recolhidas de diferentes áreas urbanas (Hundesa et al., 2006).

Apesar de serem propostos como possíveis indicadores virais de contaminação fecal, perante a sua estabilidade em águas residuais (Bofill-Mas et al., 2006), os dados acerca da sua resistência à inactivação com cloro ainda não foram descritos, prevendo-se elevada resistência à desinfeção (Corrêa et al., 2012).

As vias de transmissão postuladas têm incluído a oral e respiratória, mas o facto de terem sido detectados em águas residuais de diferentes zonas geográficas sugere a possível transmissão através da água e alimentos (Bofill-Mas et al., 2010).

As infecções por PyV são comuns na população, em geral, mas raramente induzem sinais e sintomas clínicos. O quadro é variável, quando se manifestam, podendo associar-se a patologias importantes nos indivíduos imunocomprometidos. (Dalianis & Hirsch, 2013; Hundesa et al., 2006)

### **3. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE VÍRUS EM DIFERENTES TIPOS DE ÁGUAS E COMPARAÇÃO COM OS INDICADORES MICROBIOLÓGICOS COMUNS**

A descarga de águas residuais não tratadas representa uma das principais fontes de contaminação dos ambientes aquáticos por microrganismos patogénicos, nomeadamente por vírus entéricos, largamente excretados na matéria fecal, apesar de as águas residuais tratadas poderem também manter elevadas concentrações de vírus, cujos métodos actuais de tratamento nem sempre removem eficazmente. As mesmas são descarregadas nas águas superficiais, potencialmente utilizadas como fontes de água para consumo humano, na

agricultura, no cultivo de marisco e balneares. (La Rosa, Pourshaban, Iaconelli, & Muscillo, 2010; Lodder, Van Den Berg, Rutjes, & De Roda Husman, 2010)

A descarga de vírus nas águas residuais tratadas não se encontra regulamentada e a monitorização das mesmas continua a basear-se apenas nos parâmetros microbiológicos bacterianos, preditivos de contaminação viral (Griffin et al., 2003).

Neste sentido, a análise virológica das águas é necessária e justifica-se para diferentes propósitos, como a) estudo da incidência e comportamento virais em ambientes aquáticos, b) avaliação da presença e risco de infecção, c) avaliação da eficácia dos processos de tratamento e desinfecção viral e d) monitorização dos parâmetros de rotina constantes das *guidelines* e especificações legais (Grabow, 2007). Apesar de os vírus entéricos serem continuamente libertados para o ambiente, a sua concentração nas águas superficiais é baixa, o que implica a necessidade de análise de grandes quantidades das mesmas (Lodder et al., 2010).

De acordo com o supracitado e tendo como objectivo a avaliação da presença de vírus em diferentes tipos de águas, bem como comparação com indicadores microbiológicos comuns, a Tabela 3 resume alguns estudos em que se detectou a presença de microrganismos patogénicos, entre os quais vírus entéricos.

De um modo geral, as amostras relativas aos estudos apresentados na Tabela 3 são representativas dos diferentes tipos de águas em que os vírus entéricos podem ocorrer, incluindo águas subterrâneas, fontes de água superficiais, águas de consumo, rios e águas costeiras, bem como águas residuais. Representam também diferentes zonas do globo, desde países em desenvolvimento (Gana e Bangladesh) a países desenvolvidos (Itália, França, Holanda e EUA).



Tabela 3 – Análise da presença de vírus em diferentes tipos de águas e comparação com indicadores microbiológicos comuns

AMOSTRA / LOCALIZAÇÃO		IMC DETECTADOS	CONCENTRAÇÃO DETECTADA	LIMITES INDICADORES	VÍRUS DETECTADOS	CONCENTRAÇÃO DETECTADA	REFERÊNCIA
Águas subterrâneas	1) Bangladesh	<i>E. coli</i> Coliformes totais	<1 MPN/100mL	ND	Rotavírus	8.5x10 <sup>3</sup> genes/100mL	Ferguson <i>et al.</i> , 2012
Fontes de água superficiais	2) Holanda	Colifagos somáticos Fagos F-específicos	105 – 2.0x10 <sup>4</sup> PFU/L 2.0 – 4.3x10 <sup>3</sup> PFU/L	ND	Enterovírus Reovírus Norovírus Rotavírus	0.0052 – 2.4 PFU/L 0.013 – 1.3 PFU/L 0 – 26 PDU/L 0.88 – 375 PDU/L	Lodder <i>et al.</i> , 2010
Águas de consumo	3) Gana	<i>E. coli</i> Coliformes totais	Não testou positivo Positivo	ND	Norovírus Hu GII Poliomavírus Hu (JC ou BK)	Positivo Positivo	Gibson <i>et al.</i> , 2011
	4) França (Local D)	<i>E. coli</i> <i>C. perfringens</i>	<823 GU/1000L <1.6x10 <sup>2</sup> GU/1000L	0/100mL ND	Adenovírus	<1.1x10 <sup>1</sup> GU/1000L	Jacob <i>et al.</i> , 2015
Rio	5) França (Local C)	<i>E. coli</i> <i>C. perfringens</i>	8.8x10 <sup>3</sup> GU/50L 4x10 <sup>2</sup> GU/50L	ND	Adenovírus	8.8x10 <sup>2</sup> GU/50L	Jacob <i>et al.</i> , 2015
Águas costeiras	6) Califórnia (Sul)	Enterococos Coliformes fecais Coliformes totais	Abaixo dos LI	<104 CFU/mL <400 CFU/mL	Adenovírus	8.8x10 <sup>2</sup> – 9.24x10 <sup>3</sup> genomas/L	Jiang, Noble e Chu, 2001
	7) EUA (Doheny Beach)	Enterococos Coliformes fecais	Consistentemente abaixo dos LI	<104 CFU/mL <400 CFU/mL	Poliomavírus Hu Adenovírus	125–2884 cópias/100mL Positivo	McQuaig, Griffith e Harwood, 2012
	8) EUA (Avalon Beach)	Enterococos Coliformes fecais	Consistentemente abaixo dos LI	<104 CFU/mL <400 CFU/mL	Poliomavírus Hu	50–35481 cópias/100mL	
Águas residuais	9) Califórnia	Enterococos	≈2.3x10 <sup>4</sup> – 1.8x10 <sup>6</sup> CFU/100mL	ND	Adenovírus	≈8.1x10 <sup>4</sup> GC/100mL	He e Jiang, 2005
	10) Califórnia e Flórida IN	<i>E. coli</i> Enterococos Coliformes fecais	4.6x10 <sup>4</sup> CFU/mL 2.5x10 <sup>4</sup> CFU/mL 7.4x10 <sup>4</sup> CFU/mL	ND	Poliomavírus Hu	3.0x10 <sup>4</sup> GC/mL	McQuaig <i>et al.</i> , 2009
	11) Califórnia e Flórida OUT	<i>E. coli</i> Enterococos Coliformes fecais	2.0x10 <sup>-2</sup> CFU/mL 1.8x10 <sup>-1</sup> CFU/mL 8.4x10 <sup>-2</sup> CFU/mL	ND	Poliomavírus Hu	1.2x10 <sup>-1</sup> GC/mL	
	12) Itália IN	<i>E. coli</i> Enterococos	2.10x10 <sup>7</sup> MPN/100mL 2.90x10 <sup>6</sup> MPN/100mL	ND	Adenovírus Enterovírus Norovírus GI Norovírus GII	3.30x10 <sup>7</sup> GC/mL 2.40x10 <sup>6</sup> GC/mL 9.30x10 <sup>6</sup> GC/mL 2.60x10 <sup>6</sup> GC/mL	Rosa, La <i>et al.</i> , 2010
	13) Itália OUT	<i>E. coli</i> Enterococos	2.20x10 <sup>5</sup> MPN/100mL 4.40x10 <sup>4</sup> MPN/100mL	ND	Adenovírus Enterovírus Norovírus GI Norovírus GII	7.60x10 <sup>6</sup> GC/mL 1.60x10 <sup>6</sup> GC/mL 2.00x10 <sup>6</sup> GC/mL 9.90x10 <sup>5</sup> GC/mL	

CFU – Colony-forming unit; IMC – Indicadores Microbiológicos Comuns; GC – Genomic Copies; GU – Genomic Units; Hu – Humano; IN – Influyente; LI – Limites Indicadores; MPN – Most Probable Number; ND – Não Disponível; OUT – efluente tratado; PDU – PCR-detectable units; PFU – Plaque-forming unit.

Os microrganismos indicadores detectados nas referidas amostras incluem *E. coli* e enterococos - constantes na legislação europeia em vigor para as águas de consumo humano da rede de distribuição (Parlamento Europeu, 1998), bem como coliformes totais, coliformes fecais, colifagos somáticos/fagos F-específicos<sup>G</sup> e *C. perfringens* – utilizados por alguns autores, mas não patentes na Directiva. A cultura clássica foi o método de eleição utilizado para a detecção dos mesmos, nos diferentes estudos.

A comparação com limites indicadores foi possível nos estudos que os disponibilizaram e nas amostras europeias de água para consumo humano.

O qPCR foi o método de eleição na detecção de vírus nas diferentes amostras, verificando-se a ocorrência de adenovírus, poliomavírus e norovírus com maior frequência relativa e enterovírus, rotavírus e reovírus com menor frequência. A expressão de resultados pelos autores, no que respeita ao volume, variou entre 1 mL e 1000 L.

A elevada frequência de adenovírus detectados pode ser explicada pelas suas características intrínsecas – é um vírus de dsDNA, é o mais termoestável e apresenta pouca ou nenhuma variação sazonal no padrão de excreção (He & Jiang, 2005).

Considerando um total de 13 amostras/localização: 7 testaram positivo para um ou mais indicadores microbiológicos comuns e para vírus entéricos (fontes de água superficiais, água de consumo - Gana, rio, águas residuais *IN* – Califórnia/Flórida/Itália e *OUT* - Itália); 1 testou negativo para indicadores e vírus entéricos (água de consumo - França), com base nas eficiências teóricas dos tratamentos e concentrações determinadas (Jacob et al., 2015) e sendo o resultado consistente com as expectativas de qualidade da água de consumo na Europa; 5 testaram negativo para os microrganismos indicadores comuns e positivo para vírus entéricos (águas subterrâneas, águas costeiras – Sul Califórnia/US e água residual *OUT* – Califórnia/Flórida).

Para além disso, He & Jiang (2005) concluíram que enquanto os métodos moleculares, como o qPCR, tendem a sobrestimar a quantidade de vírus infecciosos numa água, a cultura clássica tende a subestimá-la. Jacob et al. (2015) estimaram um risco de infecção por adenovírus entre 1% e 42%, em caso de actividades balneares nas águas do rio (França – Local C).

Lodder et al. (2010) detectaram norovírus e rotavírus em 45% e 48% das amostras, respectivamente e colifagos somáticos e fagos F-específicos em 100% e 97% das amostras,

---

<sup>G</sup> A sobrevivência e incidência dos bacteriófagos (*somatic coliphages, F-specific phages*), na água, assemelha-se mais ao vírus humanos do que outros indicadores bacterianos, normalmente utilizados. Os colifagos somáticos ocorrem em grandes quantidades nas águas residuais e ambientes aquáticos poluídos, sendo fáceis de detectar. Os fagos F-específicos são altamente específicos das águas residuais e não podem replicar-se em ambientes aquáticos, pelo que são mais difíceis de detectar. A presença dos mesmos nem sempre se correlaciona com a de vírus entéricos humanos. (Lin & Ganesh, 2013)

respectivamente. Inferem assim que a presença de bacteriófagos não é indicativa da presença de vírus patogénicos humanos. Apesar de não serem indicativos da qualidade da fonte de água, os bacteriófagos podem ser úteis na avaliação dos métodos utilizados e na determinação das eficiências de tratamento (Lodder et al., 2010).

Segundo Ferguson et al. (2012) a frequência de detecção de *E. coli*, nas águas subterrâneas, não foi preditiva da presença ou ausência de rotavírus, estabelecendo uma correlação negativa entre a presença de rotavírus e indicadores, individualmente ou combinados, possivelmente devido às diferentes características de sobrevivência e transporte.

McQuaig et al. (2012) estabeleceram correlação entre a presença de adenovírus e as concentrações de poliomavírus humanos, nas águas costeiras. Jiang et al. (2001) constataram que os padrões actuais de qualidade da água balnear, na Califórnia, não reflectem a qualidade viral da mesma.

McQuaig et al. (2009) estimaram as correlações estatísticas entre os diferentes organismos presentes nas águas residuais. Nas amostras de influentes (*IN*) estabeleceram correlações negativas entre as concentrações de HuPyV e as concentrações dos indicadores e correlações positivas para as concentrações dos indicadores entre si. Nas amostras de efluentes (*OUT*) determinaram correlações negativas entre as concentrações de HuPyV e de coliformes fecais, correlações negativas entre as concentrações de HuPyV e de *E. coli* e correlações negativas entre as concentrações de HuPyV e de enterococos, mas com tendência positiva.

La Rosa et al. (2010) determinaram ausência de correlação entre a eficiência média de remoção das bactérias (98.9%) e dos vírus entéricos (74%), sugestiva da presença destes não só nos influentes, mas também nos efluentes já tratados.

Tendo em conta o supracitado, pode concluir-se que os parâmetros indicadores bacterianos actuais não são preditivos de contaminação viral de origem humana, justificando-se a implementação da análise virológica nos parâmetros de análise das águas, constantes dos diversos regulamentos e directivas. McQuaig et al. (2009) consideram os marcadores bacterianos pouco exactos na predição da presença de microrganismos patogénicos humanos, particularmente de vírus. Acrescentam que os vírus de dsDNA tendem a ser mais resistentes aos diferentes factores de stress ambiental, como a temperatura, a radiação UV e desinfectantes, comparativamente às bactérias, mimetizando, por isso, melhor a sobrevivência de vírus e protozoários nos ambientes aquáticos.

#### **4. CONCLUSÕES**

As doenças infecciosas causadas por microrganismos patogénicos transmitidos pela água de consumo representam um dos riscos mais comuns para a saúde pública e com maior distribuição mundial. (WHO, 2008, p. 121)

A Directiva 98/83/CE (Parlamento Europeu, 1998) evidencia a necessidade de “normas comunitárias para os parâmetros essenciais e preventivos relacionados com a saúde no que respeita à água destinada ao consumo humano, de forma a definir os objectivos mínimos de qualidade ambiental (...)” e de, nesse sentido, “tomar medidas de protecção adequadas para assegurar a boa qualidade nas águas de superfície e subterrâneas”, através de tratamento adequado e aplicado antes do fornecimento.

Mais de 100 tipos diferentes de vírus são excretados nas fezes humanas e potencialmente transmissíveis pela água (Jiang et al., 2001). Contudo, a detecção de microrganismos patogénicos presentes na água é dispendiosa, morosa e complexa, devido à grande variabilidade dos mesmos (Ferguson et al., 2012). Por estes motivos, actualmente o controlo da qualidade da água de consumo, nos países desenvolvidos, baseia-se essencialmente em parâmetros indicadores bacterianos de contaminação fecal, entre os quais a quantificação de *E. coli*, coliformes fecais e/ou coliformes totais (Lin & Ganesh, 2013). A qualidade da fonte de água, em conjunto com os processos de tratamento aplicados determinam a qualidade da água para consumo (Lodder et al., 2010).

Apesar de a concentração de bactérias de origem fecal poder dar alguma indicação acerca da presença de vírus, quando a contaminação é de origem humana, a sua presença nem sempre se correlaciona com a detecção desses indicadores (Lin & Ganesh, 2013), como se pôde concluir em 3.

Assim, alguns vírus entéricos – adenovírus, calicivírus, enterovírus e VHA – já integram a *Contaminant Candidate List 4* (CCL 4), da autoria da EPA (*Environmental Protection Agency*), por ocorrerem nos sistemas públicos de água e actualmente não serem sujeitos a regulamentação, potencialmente requerida no futuro (EPA, 2015).

Actualmente, a Holanda representa o único país que requer a existência de controlo de vírus entéricos na água de consumo (Ashbolt, 2015).

Os adenovírus têm sido propostos como possíveis indicadores virais de contaminação fecal, nos países desenvolvidos (Vieira et al., 2012), dada a sua estabilidade supramencionada. McQuaig et al. (2009) concluíram que os PyV humanos mimetizaram a persistência dos adenovírus, nas amostras estudadas, a diferentes temperaturas, enquanto os indicadores bacterianos não. Assim, sugerem os HuPyV como melhores indicadores dos vírus entéricos

patogénicos do que as bactérias, por partilharem tamanho/estrutura e características de crescimento no ambiente.

De um modo geral, a garantia da qualidade microbiológica da água para consumo baseia-se na utilização de múltiplas barreiras, desde que a mesma é captada na origem até chegar ao consumidor, de modo a prevenir ou reduzir a sua contaminação (por bactérias, vírus, protozoários e helmintas), a níveis não prejudiciais para a saúde. Quando uma contaminação é detectada, muitos indivíduos podem já ter sido expostos, pelo que a garantia da qualidade não pode resumir-se ao controlo do produto final, mas sim à implementação de *Water Safety Plans* (Ashbolt, 2015), de modo a prevenir a ocorrência de surtos. (WHO, 2008)

## **5. BIBLIOGRAFIA**

- 5.1. Abad, F. X., Pintó, R. M., Villena, C., Gajardo, R., & Bosch, A. (1997). Astrovirus survival in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 3119–3122.
- 5.2. Ashbolt, N. J. (2015). Microbial Contamination of Drinking Water and Human Health from Community Water Systems. *Current Environmental Health Reports*, 2(1), 95–106.
- 5.3. Bertrand, I., Schijven, J. F., Sánchez, G., Wyn-Jones, P., Ottoson, J., & et. al. (2012). The impact of temperature on the inactivation of enteric viruses in food and water: A review. *Journal of Applied Microbiology*, 112(6), 1059–1074.
- 5.4. Bofill-Mas, S., Albinana-Gimenez, N., Clemente-Casares, P., Hundesa, A., Rodriguez-Manzano, J., Allard, A., ... Girones, R. (2006). Quantification and stability of human adenoviruses and polyomavirus JCPyV in wastewater matrices. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7894–7896.
- 5.5. Bofill-Mas, S., Rodriguez-Manzano, J., Calgua, B., Carratala, A., & Girones, R. (2010). Newly described human polyomaviruses Merkel cell, KI and WU are present in urban sewage and may represent potential environmental contaminants. *Virology journal*, 7, 141.
- 5.6. Bosch, A., Guix, S., Sano, D., & Pintó, R. M. (2008). New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water. *Current opinion in biotechnology*, 19(3), 295–301.
- 5.7. Bosch, A., Pintó, R. M., & Guix, S. (2014). Human astroviruses (Abstract). *Clin Microbiol Rev.*, 27(4).

- 5.8. Cashdollar, J. L., & Wymer, L. (2013). Methods for primary concentration of viruses from water samples: a review and meta-analysis of recent studies. *Journal of applied microbiology*, 115(1), 1–11.
- 5.9. Chapron, C. D., Ballester, N. a., Fontaine, J. H., Frades, C. N., & Margolin, A. B. (2000). Detection of astroviruses, enteroviruses, and adenovirus types 40 and 41 in surface waters collected and evaluated by the information collection rule and an integrated cell culture-nested PCR procedure. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2520–2525.
- 5.10. Corrêa, A. de A., Carratala, A., Barardi, C. R. M., Calvo, M., Girones, R., & Bofill-Mas, S. (2012). Comparative inactivation of murine norovirus, human adenovirus, and human jc polyomavirus by chlorine in seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(18), 6450–6457.
- 5.11. Cromeans, T. L., Kahler, A. M., & Hill, V. R. (2010). Inactivation of adenoviruses, enteroviruses, and murine norovirus in water by free chlorine and monochloramine. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(4), 1028–1033.
- 5.12. Dalianis, T., & Hirsch, H. H. (2013). Human polyomaviruses in disease and cancer. *Virology*, 437(2), 63–72.
- 5.13. Eischeid, A. C., Meyer, J. N., & Linden, K. G. (2009). UV disinfection of adenoviruses: Molecular indications of DNA damage efficiency. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(1), 23–28.
- 5.14. EPA. (2015). EPA. Obtido 29 de Março de 2015, de <http://www2.epa.gov/ccl/microbial-contaminants-ccl-4>
- 5.15. Ferguson, A. S., Layton, A. C., Mailloux, B. J., Culligan, P. J., Williams, D. E., Smartt, A. E., ... van Geen, A. (2012). Comparison of fecal indicators with pathogenic bacteria and rotavirus in groundwater. *Science of the Total Environment*, 431(2012), 314–322.
- 5.16. Fongaro, G., Nascimento, M. Do, Rigotto, C., Ritterbusch, G., da Silva, A., Esteves, P., & Barardi, C. R. M. (2013). Evaluation and molecular characterization of human adenovirus in drinking water supplies: viral integrity and viability assays. *Virology journal*, 10(166).
- 5.17. Gibson, K. E. (2014). Viral pathogens in water: occurrence, public health impact, and available control strategies. *Current opinion in virology*, 4, 50–57.
- 5.18. Gibson, K. E., Opryszko, M. C., Schissler, J. T., Guo, Y., & Schwab, K. J. (2011). Evaluation of human enteric viruses in surface water and drinking water resources in southern Ghana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84(1), 20–29.

- 5.19. Gilroy, R. K. (2015). Medscape. Obtido 20 de Junho de 2015, de <http://emedicine.medscape.com/article/177484-overview#a3>
- 5.20. Grabow, W. O. K. (2007). Overview of Health-Related Water Virology. Em A. Bosch (Ed.), *Human Viruses in Water: Perspectives in Medical Virology* (1st ed., pp. 1–25). Elsevier.
- 5.21. Griffin, D. W., Donaldson, K. a., Paul, J. H., & Rose, J. B. (2003). Pathogenic human viruses in coastal waters. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(1), 129–143.
- 5.22. He, J., & Jiang, S. (2005). Quantification of Enterococci and Human Adenoviruses in Environmental Samples by Real-Time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2250–2255.
- 5.23. Hijnen, W. a M., Beerendonk, E. F., & Medema, G. J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Research*, 40(1), 3–22.
- 5.24. Hundesa, A., Maluquer De Motes, C., Bofill-Mas, S., Albinana-Gimenez, N., & Girones, R. (2006). Identification of human and animal adenoviruses and polyomaviruses for determination of sources of fecal contamination in the environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7886–7893.
- 5.25. Imai, T., Sano, D., Miura, T., Okabe, S., Wada, K., Masago, Y., & Omura, T. (2011). Adsorption characteristics of an enteric virus-binding protein to norovirus, rotavirus and poliovirus. *BMC Biotechnology*, 11(1), 123.
- 5.26. Jacob, P., Henry, A., Meheut, G., Charni-Ben-Tabassi, N., Ingrand, V., & Helmi, K. (2015). Health Risk Assessment Related to Waterborne Pathogens from the River to the Tap. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(3), 2967–2983.
- 5.27. Jiang, S., Noble, R., & Chu, W. (2001). Human Adenoviruses and Coliphages in Urban Runoff-Impacted Coastal Waters of Southern California. *Applied and environmental microbiology*, 67(1), 179–184.
- 5.28. Kotwal, G., & Cannon, J. L. (2014). Environmental persistence and transfer of enteric viruses. *Current opinion in virology*, 4(2004), 37–43.
- 5.29. La Rosa, G., Fratini, M., Libera, S. Della, Iaconelli, M., & Muscillo, M. (2012). Emerging and potentially emerging viruses in water environments. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 48(4), 397–406.
- 5.30. La Rosa, G., Pourshaban, M., Iaconelli, M., & Muscillo, M. (2010). Quantitative real-time PCR of enteric viruses in influent and effluent samples from wastewater treatment plants in Italy. *Ann Ist Super Sanità*, 46(3), 266–273.

- 5.31. Lin, J., & Ganesh, A. (2013). Water quality indicators: bacteria, coliphages, enteric viruses. *International Journal of Environmental Health Research*, 23(6), 484–506.
- 5.32. Lodder, W. J., Van Den Berg, H. H. J. L., Rutjes, S. A., & De Roda Husman, A. M. (2010). Presence of enteric viruses in source waters for drinking water production in the Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(17), 5965–5971.
- 5.33. McQuaig, S., Griffith, J., & Harwood, V. J. (2012). Association of fecal indicator bacteria with human viruses and microbial source tracking markers at coastal beaches impacted by nonpoint source pollution. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(18), 6423–6432.
- 5.34. McQuaig, S., Griffith, J., & Harwood, V. J. (2012). Association of fecal indicator bacteria with human viruses and microbial source tracking markers at coastal beaches impacted by nonpoint source pollution. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(18), 6423–6432.
- 5.35. McQuaig, S. M., Scott, T. M., Lukasik, J. O., Paul, J. H., & Harwood, V. J. (2009). Quantification of human polyomaviruses JC virus and BK Virus by TaqMan quantitative PCR and comparison to other water quality indicators in water and fecal samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(11), 3379–3388.
- 5.36. Mohammad, S., Tahaei, E., Mohebbi, S. R., & Zali, M. R. (2012). Enteric hepatitis viruses. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 5(1), 7–15.
- 5.37. Ogorzaly, L., Bertrand, I., Paris, M., Maul, A., & Gantzer, C. (2010). Occurrence, survival, and persistence of human adenoviruses and F-specific RNA phages in raw groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(24), 8019–8025.
- 5.38. Oka, T., Mori, K., Iritani, N., Harada, S., Ueki, Y., Iizuka, S., et al. (2012). Human sapovirus classification based on complete capsid nucleotide sequences (Brief Report). *Archives of Virology*, 157(2), 349–352.
- 5.39. Oka, T., Wang, Q., Katayama, K., & Saif, L. (2015). Comprehensive review of human sapoviruses (Abstract). *Clin Microbiol Rev*, 28(1), 32–53.
- 5.40. Parlamento Europeu. (1991). DIRECTIVA 91/271/CEE. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, 40–52.
- 5.41. Parlamento Europeu. (1998). DIRECTIVA 98/83/CE. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*, 32–54.
- 5.42. Parlamento Europeu. (2006). DIRECTIVA 2006/7/CE. *Jornal Oficial da União Europeia*, 37 – 51.



- 5.43. Rajtar, B., Majek, M., Polański, Ł., & Polz-Dacewicz, M. (2008). ENTEROVIRUSES IN WATER ENVIRONMENT – A POTENTIAL THREAT TO PUBLIC HEALTH. *Ann Agric Environ Med*, 15, 199–203.
- 5.44. Rodríguez, R. a., Pepper, I. L., & Gerba, C. P. (2009). Application of PCR-based methods to assess the infectivity of enteric viruses in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(2), 297–307.
- 5.45. Rzezutka, A., & Cook, N. (2004). Survival of human enteric viruses in the environment and food. *FEMS Microbiology Reviews*, 28(4), 441–453.
- 5.46. Schernewski, G., & Jülich, W. D. (2001). Risk assessment of virus infections in the Oder estuary (southern Baltic) on the basis of spatial transport and virus decay simulations. *International journal of hygiene and environmental health*, 203(4), 317–325.
- 5.47. Schwab, K. (2007). Waterborne Gastroenteritis Viruses. Em A. Bosch (Ed.), *Human Viruses in Water: Perspectives in Medical Virology* (1st ed., pp. 27–38). Elsevier.
- 5.48. SCHWAB, K. J., LEON, R. DE, & SOBSEY, M. D. (1995). Concentration and purification of beef extract mock eluates from water samples for the detection of enteroviruses, hepatitis A virus, and Norwalk virus by reverse transcription-PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(2), 531–537.
- 5.49. Szabo, J., & Minamyer, S. (2014). Decontamination of biological agents from drinking water infrastructure: a literature review and summary. *Environment International*, 72, 124–128.
- 5.50. Van der Poel, W. (2014). Food and environmental routes of Hepatitis E virus transmission. *Current opinion in virology*, 91–96.
- 5.51. Vieira, C. B., Mendes, A. C. D. O., Guimarães, F. R., Fumian, T. M., Leite, J. P. G., Gaspar, A. M. C., & Miagostovich, M. P. (2012). Detection of enteric viruses in recreational waters of an urban lagoon in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(6), 778–784.
- 5.52. WHO. (2008). Guidelines for Drinking-water Quality.