doi: 10.5123/S2176-6223202501786

Diagnóstico ambiental de SARS-CoV-2: correlação viral com fatores bióticos e abióticos em águas superficiais do centro urbano de Belém, estado do Pará, Brasil

Environmental diagnosis of SARS-CoV-2: viral correlation with biotic and abiotic factors in surface waters of the urban center of Belém, Pará State, Brazil

Gabrielly Ketenen Costa Batista[1], Denise Suéllen Amorim de Sousa Santos[2], Vanessa Brenda Silva Coimbra[2], Breno Moreira da Luz[2], Fernanda do Espírito Santo Sagica[1], Jones Anderson Monteiro Siqueira[3], Lena Líllian Canto de Sá Morais[2]

[1] *Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia e Vigilância em Saúde, Ananindeua, Pará, Brasil*
[2] *Instituto Evandro Chagas, Seção de Meio Ambiente, Ananindeua, Pará, Brasil*
[3] *Instituto Evandro Chagas, Seção de Virologia, Ananindeua, Pará, Brasil*

RESUMO

OBJETIVO: monitorar a ocorrência do RNA do SARS-CoV-2 em águas superficiais de canais urbanos da cidade de Belém, estado do Pará, entre 2021 e 2022, correlacionando os achados com parâmetros ambientais, indicadores microbiológicos e dados epidemiológicos. MATERIAIS E MÉTODOS: foram realizadas 24 coletas mensais em oito pontos, totalizando 192 amostras. As amostras foram analisadas quanto a parâmetros físico-químicos por meio de sonda multiparamétrica, presença de coliformes termotolerantes (CTT) e *Escherichia coli* pelo método ONPG-MUG, além da detecção viral por RT-qPCR direcionada aos genes N e ORF1ab. RESULTADOS: Todas as amostras apresentaram concentrações de CTT e *E. coli* acima dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 274/2000. O RNA do SARS-CoV-2 foi detectado em 23,44% das amostras para o gene N e em 11,45% para o gene ORF1ab, com maiores taxas nos primeiros meses do ano, coincidindo com os picos de casos de COVID-19. O gene ORF1ab apresentou correlação significativa com casos e óbitos (r_s = 0,73595; p = 0,0064 e r_s = 0,78101; p = 0,0027 em 2021) e explicou 81,69% da variação no número de casos (R^2 = 0,8169). A temperatura foi a única variável ambiental com correlação significativa com o gene N, enquanto não se observaram associações com os indicadores microbiológicos. CONCLUSÃO: A detecção do SARS-CoV-2 em águas superficiais de Belém evidencia riscos à saúde pública, especialmente em áreas com saneamento precário, reforçando a virologia ambiental como ferramenta estratégica para vigilância epidemiológica e para subsidiar políticas de prevenção e mitigação de riscos.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; Infecções Respiratórias; Monitoramento Ambiental, Monitoramento Biológico, *Enterobacteriaceae*.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To monitor the occurrence of SARS-CoV-2 RNA in surface waters of urban canals in the city of Belém, state of Pará, between 2021 and 2022, correlating the findings with environmental parameters, microbiological indicators, and epidemiological data. MATERIALS AND METHODS: Twenty-four monthly sampling campaigns were conducted at eight sites, totaling 192 samples. The samples were analyzed for physicochemical parameters using a multiparameter probe, the presence of thermotolerant coliforms (TTC) and *Escherichia coli* by the ONPG-MUG method, and viral detection by RT-qPCR targeting the N and ORF1ab genes. RESULTS: All samples showed TTC and *E. coli* concentrations above the limits established by CONAMA Resolution No. 274/2000. SARS-CoV-2 RNA was detected in 23.44% of samples for the N gene and 11.45% for the ORF1ab gene, with higher detection rates in the early months of the year, coinciding with peaks in COVID-19 cases. The ORF1ab gene showed a significant correlation with cases and deaths (r_s = 0.73595; p = 0.0064 and r_s = 0.78101; p = 0.0027 in 2021) and accounted for 81.69% of the variation in case numbers (R^2 = 0.8169). Temperature was the only environmental variable significantly correlated with the N gene, while no associations were observed with microbiological indicators. CONCLUSION: The detection of SARS-CoV-2 in surface waters of Belém highlights public health risks, particularly in areas with inadequate sanitation, reinforcing the role of environmental virology as a strategic tool for epidemiological surveillance and for informing policies aimed at risk prevention and mitigation.

Keywords: SARS-CoV-2; Respiratory Tract Infections; Environmental Monitoring, Biological Monitoring, Enterobacteriaceae.

Correspondência / Correspondence:
Jones Anderson Monteiro Siqueira
Instituto Evandro Chagas, Rodovia BR-316, Km 7, s/n, Cep: 67030-000 – Bairro Levilândia. – Ananindeua, Pará, Brasil.
Tel.: + 55 91 3214-2437. E-mail: jonessiqueira@iec.gov.br

INTRODUÇÃO

A Doença do Coronavírus 2019 (COVID-19) é causada pelo vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave do Coronavírus 2 (SARS-CoV-2)[1]. Essa enfermidade caracteriza-se por infecções do trato respiratório que podem variar desde sintomas leves, semelhantes aos de resfriados e gripes, até manifestações graves e potencialmente fatais[2]. Os coronavírus pertencem à ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*, subfamília *Coronavirinae*, e são classificados em quatro gêneros: *Alphacoronavirus* (α-CoV), *Betacoronavirus* (β-CoV), *Gammacoronavirus* (γ-CoV) e *Deltacoronavirus* (δ-CoV)[3]. Esses vírus apresentam ampla variedade de hospedeiros, sendo capazes de infectar animais silvestres, domésticos e seres humanos[4], e constituem agentes patogênicos relevantes, com potencial para atingir múltiplos sistemas do organismo humano, incluindo os sistemas cardiorrespiratório, nervoso e gastrointestinal[5].

O SARS-CoV-2 pode ser excretado nas fezes humanas e descartado no esgoto ou diretamente no meio ambiente, especialmente em regiões com infraestrutura de saneamento básico deficiente[6]. A Epidemiologia Baseada em Águas Residuais (*Wastewater-Based Epidemiology* – WBE) tem sido aplicada com sucesso na detecção e no monitoramento de patógenos virais[7]. Trata-se de uma metodologia consolidada, empregada na vigilância de vírus como os da hepatite A e E, poliovírus, rotavírus, norovírus e astrovírus[8], e recentemente adaptada para o rastreamento global do SARS-CoV-2, por meio da detecção do RNA viral em amostras de águas residuais[9,10].

Diversos estudos demonstraram alta taxa de detecção do RNA do SARS-CoV-2 em diferentes matrizes aquáticas, incluindo esgoto bruto, águas residuais de entrada e saída, lodo e rios contaminados[11]. A combinação de dados clínicos e ambientais possibilita a construção de modelos robustos para avaliar a dinâmica da infecção por COVID-19, além de fornecer alertas precoces sobre o aumento de hospitalizações. Nesse contexto, a WBE constitui ferramenta estratégica para o gerenciamento da saúde pública durante e após a pandemia, ao permitir a obtenção de informações epidemiológicas relevantes e a sinalização de potenciais riscos ao meio ambiente e à saúde coletiva[12].

Dessa forma, com o intuito de ampliar o conhecimento sobre a circulação ambiental do SARS-CoV-2 na região amazônica, o presente estudo teve como objetivo monitorar a ocorrência desse agente viral em águas superficiais de canais urbanos da cidade de Belém, estado do Pará, durante o biênio 2021–2022. Buscou-se ainda correlacionar sua detecção com fatores bióticos (indicadores microbiológicos) e abióticos (parâmetros físico-químicos e média mensal de precipitação), bem como com os números de casos e óbitos notificados ao sistema de saúde no mesmo período.

MATERIAIS E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo está localizada na cidade de Belém, na região da Amazônia Oriental, Norte do Brasil, entre as coordenadas geográficas 01°23'06" S e 48°29'05" W[13,14]. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística[15], o município possui população estimada de 1.303.403 habitantes, área territorial de 1.059,458 km² e densidade demográfica de 1.230,25 habitantes por quilômetro quadrado.

COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas mensalmente ao longo de 24 meses, entre janeiro de 2021 e dezembro de 2022, totalizando 192 amostras. Os procedimentos de coleta, transporte e armazenamento seguiram as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*[16].

Foram selecionados oito pontos de coleta (Figura 1), considerando critérios como áreas de drenagem, densidade populacional e vulnerabilidade social. A Tabela 1 apresenta as principais características dos pontos amostrados.

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os parâmetros físico-químicos avaliados foram pH, temperatura (°C), condutividade elétrica (µS/cm), sólidos totais dissolvidos (mg/L), oxigênio dissolvido (mg/L) e turbidez (UNT). As análises foram realizadas por potenciometria, utilizando sonda multiparamétrica HI9829 (HANNA®), previamente calibrada. Por limitações logísticas, essas análises foram realizadas apenas nas amostras coletadas entre fevereiro e dezembro de 2022.

QUANTIFICAÇÃO DOS INDICADORES MICROBIOLÓGICOS

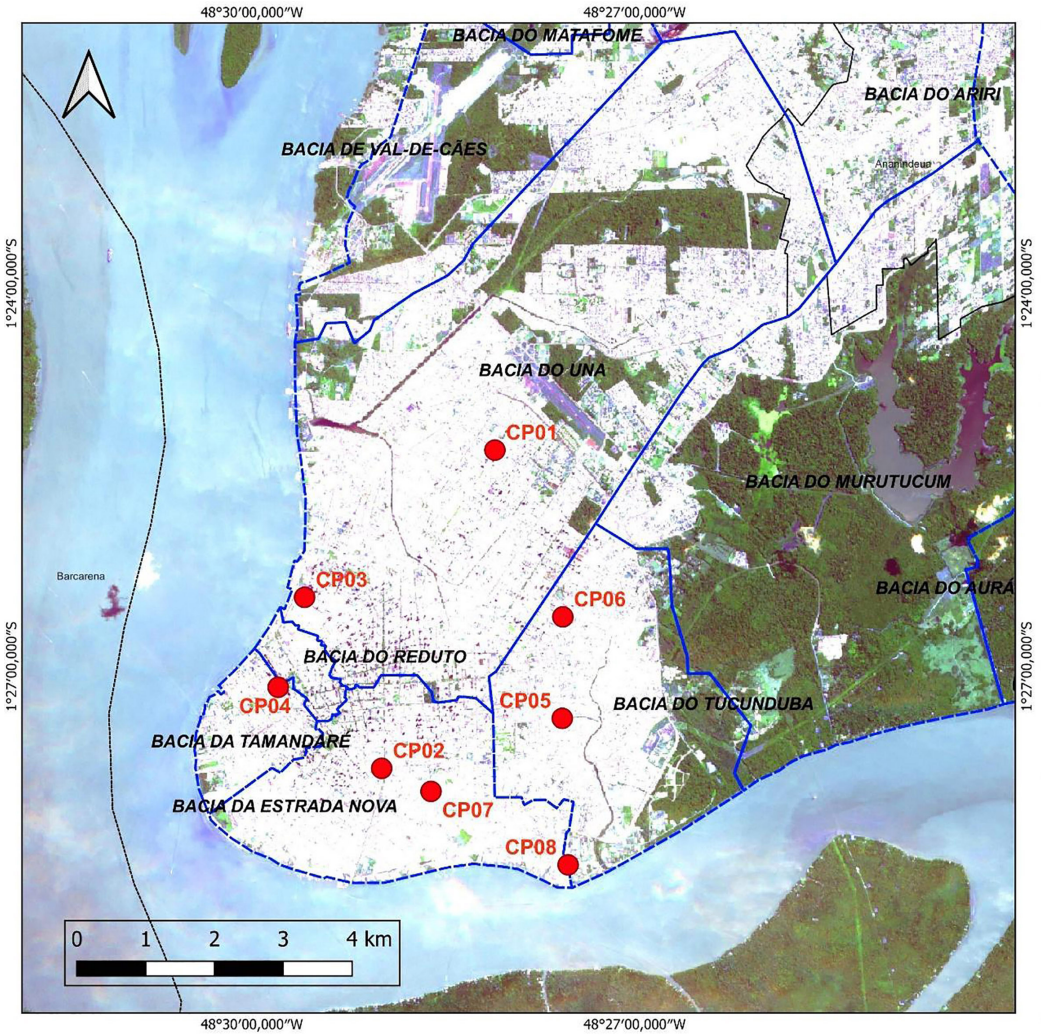
A quantificação dos indicadores microbiológicos foi realizada pela técnica de substrato cromogênico definido (ONPG-MUG), utilizando o kit Colilert-18® e o sistema Quanti-Tray®/2000 (IDEXX Laboratories, Inc.). O método consiste na adição de ONPG (o-nitro fenil-β-D-galactopiranosídeo) e MUG (4-metilumbeliferi l-β-D-glucuronídeo) a 100 mL da amostra.

Devido à elevada carga microbiana, adotaram-se diluições de 10^{-4} para os pontos 1 a 7 e de 10^{-2} para o ponto 8. As amostras foram incubadas a 35 °C e 44,5 °C por 18 horas, e os resultados expressos em Número Mais Provável (NMP).

As análises para coliformes termotolerantes (CTT) e *Escherichia coli* foram realizadas em placas Quanti-Tray. Após homogeneização da amostra com o reagente Colilert®, a mistura foi distribuída na placa, selada e incubada. Poços com coloração amarela indicaram presença de coliformes totais e termotolerantes, enquanto a fluorescência sob luz ultravioleta identificou *E. coli*. Os valores de NMP foram determinados por tabela fornecida pelo fabricante.

PROCEDIMENTO DE DETECÇÃO VIRAL

A concentração de partículas virais foi realizada pelo método de floculação orgânica com leite desnatado acidificado, conforme descrito por Calgua[17]. A extração do RNA viral foi realizada a partir das amostras concentradas utilizando o kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante.



Fonte: LABGEO/SEEPI/IEC/SVSA/MS, 2024.

Figura 1 – Mapa da cidade de Belém, estado do Pará, com a demarcação dos pontos de coleta (CP) de água analisados quanto à presença de SARS-CoV-2

A detecção do RNA do SARS-CoV-2 foi realizada por RT-qPCR em equipamento QuantStudio™ 5 (Applied Biosystems®), com base no protocolo do CDC de Atlanta (24 de janeiro de 2020). Foram utilizados primers e sondas específicos para amplificação parcial dos genes N e ORF1ab, com ponto de corte de CT ≤ 45, considerando um total de 50 ciclos.

O kit BIOMOL OneStep/COVID-19® (Instituto de Biologia Molecular do Paraná – IBMP) foi empregado conforme as recomendações do fabricante, adotando-se os seguintes parâmetros de termociclagem: transcrição reversa (15 min a 50 °C); desnaturação inicial (3 min a 95 °C); 40 ciclos de desnaturação (15 s a 95 °C) e anelamento/alongamento (40 s a 55 °C).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram organizados em Microsoft Excel® (versão 2019) e analisados nos *softwares* Past 3 e BioEstat 5.3. Foram realizadas análises descritivas e o teste de Shapiro–Wilk para avaliação da normalidade das variáveis, com o intuito de definir o método de correlação mais adequado.

Utilizou-se o teste de correlação de Spearman (r_s), com nível de significância de $p < 0,05$ para o ano de 2021 e $p < 0,10$ para 2022, dado o menor número de amostras positivas neste período. Modelos de regressão linear simples foram aplicados para variáveis com correlação estatisticamente significativa. Os gráficos foram produzidos no *software* RStudio (versão 4.5.1).

Os dados epidemiológicos sobre casos e óbitos por COVID-19 em Belém foram disponibilizados pela Secretaria de Estado da Saúde do Pará (SESPA) e estão acessíveis no Sistema de Monitoramento Estadual COVID-19[18]. As médias pluviométricas foram obtidas no portal do Instituto Nacional de Meteorologia[19].

RESULTADOS

INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE QUALIDADE DA ÁGUA

Durante o período do estudo, foram realizadas análises para quantificar coliformes termotolerantes (CTT) e *Escherichia coli* em 192 amostras coletadas em oito pontos distintos. De acordo com a Resolução CONAMA nº 274/2000, o limite máximo estabelecido para esses indicadores é 1.000 NMP por 100 mL. Todas as amostras analisadas excederam esse limite para ambos os parâmetros.

Tabela 1 – Pontos de amostragem de águas superficiais, respectivas bacias hidrográficas, coordenadas geográficas e principais características ambientais e sociais associadas.

Ponto	Bacia hidrográfica	Longitude / Latitude	Características
PT 1: Canal da Travessa Pirajá, entre Pedro Miranda e Rua Antônio Everdosa	Una	−48,4688129° / −1,4211663°	Inserido em área densamente urbanizada no bairro da Pedreira. Parte do canal é fechado por galeria e outra parte permanece aberta. Há múltiplos pontos de lançamento de esgoto ao longo de sua extensão.
PT 2: Canal da Generalíssimo Deodoro, entre Rua Guimarães e Rua Engenheiro Fernando Guilhon	Estrada Nova	−48,4827137° / −1,4613547°	Caracterizado por alagamentos frequentes e grande quantidade de resíduos sólidos descartados irregularmente na região.
PT 3: Canal da Avenida Visconde de Souza Franco, entre Rua Belém e Rua Municipalidade	Reduto	−48,4933961° / −1,4414519°	Localizado no centro de Belém, com diversos empreendimentos ao longo de sua extensão que realizam lançamento de esgoto na drenagem pluvial.
PT 4: Avenida Tamandaré, entre Travessa Monte Alegre e Rua Ângelo Custódio	Tamandaré	−48,5010285° / −1,4601765°	Canal de formato retangular com soleira trapezoidal, situado no centro da cidade. Suas águas são drenadas para a Baía do Guajará.
PT 5: Rua dos Mundurucus, entre Travessa Francisco Monteiro e Travessa Segunda de Queluz	Tucunduba	−48,4595129° / −1,4567669°	Canal com cerca de 700 metros, localizado em área de feira livre no bairro do Guamá. Rodeado por habitações e sujeito a deposição intensa de resíduos sólidos.
PT 6: Canal da Travessa Três de Maio, entre Rua Antônio Barreto e Rua Domingos Marreiros	Una	−48,4595129° / −1,4567669°	Canal que drena efluentes de sua bacia diretamente para o rio Guamá.
PT 7: Canal da Avenida Bernardo Sayão, entre Quadra F, Conjunto Radional II, e Passagem Radional II	Estrada Nova	−48,4815557° / −1,4765945°	Trecho de aproximadamente 200 m inserido em área densamente urbanizada no bairro da Condor. Apresenta diversos pontos de lançamento de esgoto.
PT 8: Universidade Federal do Pará, ponte sobre o rio Tucunduba	Tucunduba	−48,4545138° / −1,4739142°	Canal que drena efluentes diretamente para o rio Guamá. Possui vegetação marginal, mas recebe grande volume de resíduos e esgotos diariamente.

Observou-se ampla variação nas contagens. Para os CTT, os valores oscilaram entre $5{,}19 \times 10^9$ e $6{,}12 \times 10^{10}$ NMP/100 mL, enquanto para *E. coli* variaram de $2{,}09 \times 10^9$ a $2{,}18 \times 10^{10}$ NMP/100 mL. A Figura 2 apresenta a dispersão das médias das concentrações dos indicadores ao longo do período analisado, bem como sua relação com o limite máximo permitido pela legislação vigente.

A estatística descritiva das médias geométricas indicou o ponto 06 como aquele com as menores contagens para ambos os indicadores ($5{,}19 \times 10^9$ para CTT e $2{,}09 \times 10^9$ para *E. coli*). Em contrapartida, o ponto 04 apresentou as maiores concentrações ($6{,}12 \times 10^{10}$ para CTT e $2{,}18 \times 10^{10}$ para *E. coli*). Esses resultados estão apresentados na Tabela 2.

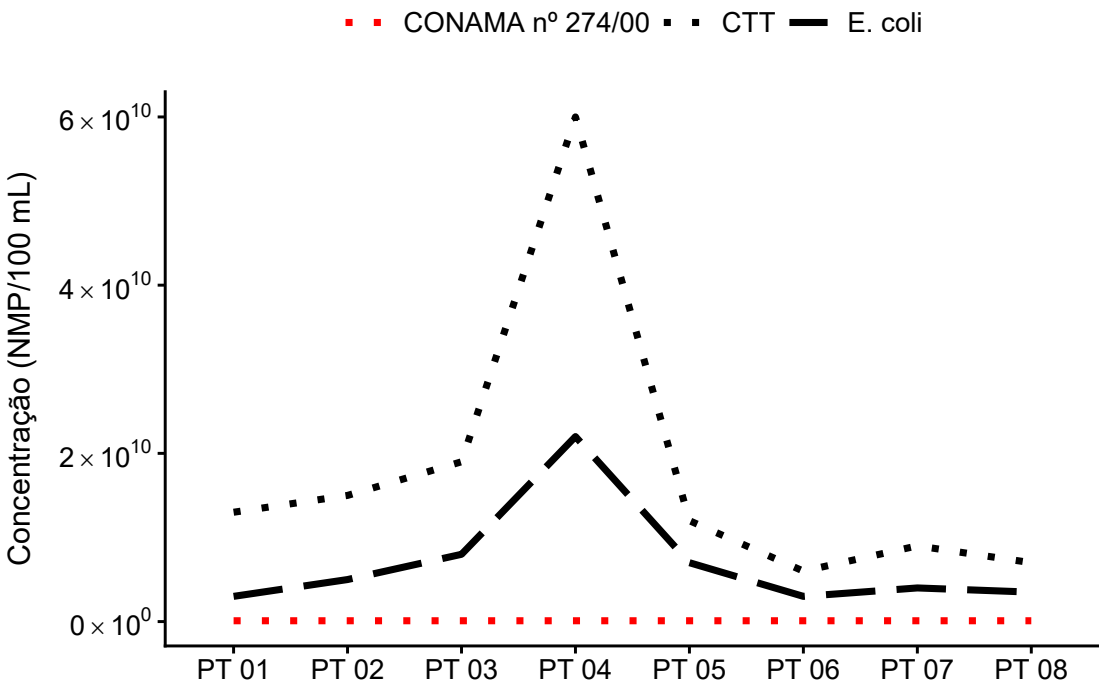
DETECÇÃO MOLECULAR DE SARS-COV-2

O RNA do SARS-CoV-2 foi detectado em 23,44% (45/192) das amostras para o gene N e em 11,45% (22/192) para o gene ORF1ab. Em 2021, 22,92% (22/96) das amostras foram positivas para o gene N e 18,75% (18/96) para o gene ORF1ab. Em 2022, a detecção foi de 23,95% (23/96) para o gene N e 4,16% (4/96) para o gene ORF1ab.

A análise por ponto de coleta em 2021 revelou maior número de detecções no ponto 06, tanto para o gene N quanto para o ORF1ab (quatro a cinco detecções). Em 2022, nenhum ponto apresentou destaque expressivo quanto à detecção viral.

A distribuição temporal das detecções ao longo do biênio indicou maior concentração no início dos anos (Figura 3).

Em relação aos valores de ciclo limiar (CT) nas amostras positivas, observou-se que, em 2021, o gene N variou de 30,14 a 40,20 e o gene ORF1ab de 34,37 a 40,50. No ano seguinte, o gene N apresentou valores entre 34,23 e 42,31, enquanto o gene ORF1ab variou de 35,10 a 36,56.



NMP: número mais provável (eixo das ordenadas); CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente; CTT: coliformes termotolerantes; PT: ponto de coleta (eixo das abscissas).

Figura 2 – Quantificação dos indicadores microbiológicos da qualidade da água (coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*) em amostras analisadas para detecção de SARS-CoV-2 na cidade de Belém, estado do Pará, entre 2021 e 2022

Tabela 2 – Indicadores microbiológicos de qualidade da água (coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*) em oito canais urbanos da cidade de Belém, estado do Pará, entre 2021 e 2022

Ponto	Indicador	Média*	Mínimo	Máximo	Desvio padrão†
PT 01	CTT	$1{,}28 \times 10^{10}$	$9{,}60 \times 10^{6}$	$1{,}99 \times 10^{11}$	$1{,}68 \times 10^{6}$
	E. coli	$3{,}16 \times 10^{9}$	–	$2{,}64 \times 10^{10}$	$2{,}39 \times 10^{6}$
PT 02	CTT	$1{,}45 \times 10^{10}$	$9{,}20 \times 10^{6}$	$9{,}80 \times 10^{10}$	–
	E. coli	$5{,}11 \times 10^{9}$	–	$3{,}69 \times 10^{10}$	11.1837
PT 03	CTT	$1{,}89 \times 10^{10}$	$2{,}60 \times 10^{10}$	$5{,}20 \times 10^{15}$	$1{,}56 \times 10^{5}$
	E. coli	$7{,}87 \times 10^{9}$	–	$1{,}20 \times 10^{11}$	$1{,}47 \times 10^{5}$
PT 04	CTT	$6{,}12 \times 10^{10}$	$2{,}40 \times 10^{9}$	$2{,}90 \times 10^{11}$	$1{,}89 \times 10^{6}$
	E. coli	$2{,}18 \times 10^{10}$	–	$1{,}12 \times 10^{11}$	$1{,}69 \times 10^{6}$
PT 05	CTT	$1{,}11 \times 10^{10}$	–	$4{,}50 \times 10^{11}$	$7{,}60 \times 10^{5}$
	E. coli	$8{,}45 \times 10^{9}$	–	$3{,}60 \times 10^{11}$	$2{,}04 \times 10^{5}$
PT 06	CTT	$5{,}19 \times 10^{9}$	–	$2{,}42 \times 10^{11}$	$3{,}76 \times 10^{5}$
	E. coli	$2{,}09 \times 10^{9}$	–	$1{,}07 \times 10^{11}$	$4{,}36 \times 10^{5}$
PT 07	CTT	$8{,}23 \times 10^{9}$	–	$2{,}50 \times 10^{11}$	$1{,}93 \times 10^{5}$
	E. coli	$2{,}71 \times 10^{9}$	–	$6{,}49 \times 10^{10}$	$3{,}32 \times 10^{5}$
PT 08	CTT	$6{,}13 \times 10^{9}$	–	$2{,}49 \times 10^{11}$	$2{,}09 \times 10^{5}$
	E. coli	$2{,}68 \times 10^{9}$	–	$1{,}40 \times 10^{11}$	$2{,}94 \times 10^{5}$

*Média geométrica; †Desvio padrão geométrico; CTT: coliformes termotolerantes; PT: ponto de coleta. Sinal convencional utilizado: – Dado numérico igual a zero, não resultante de arredondamento.

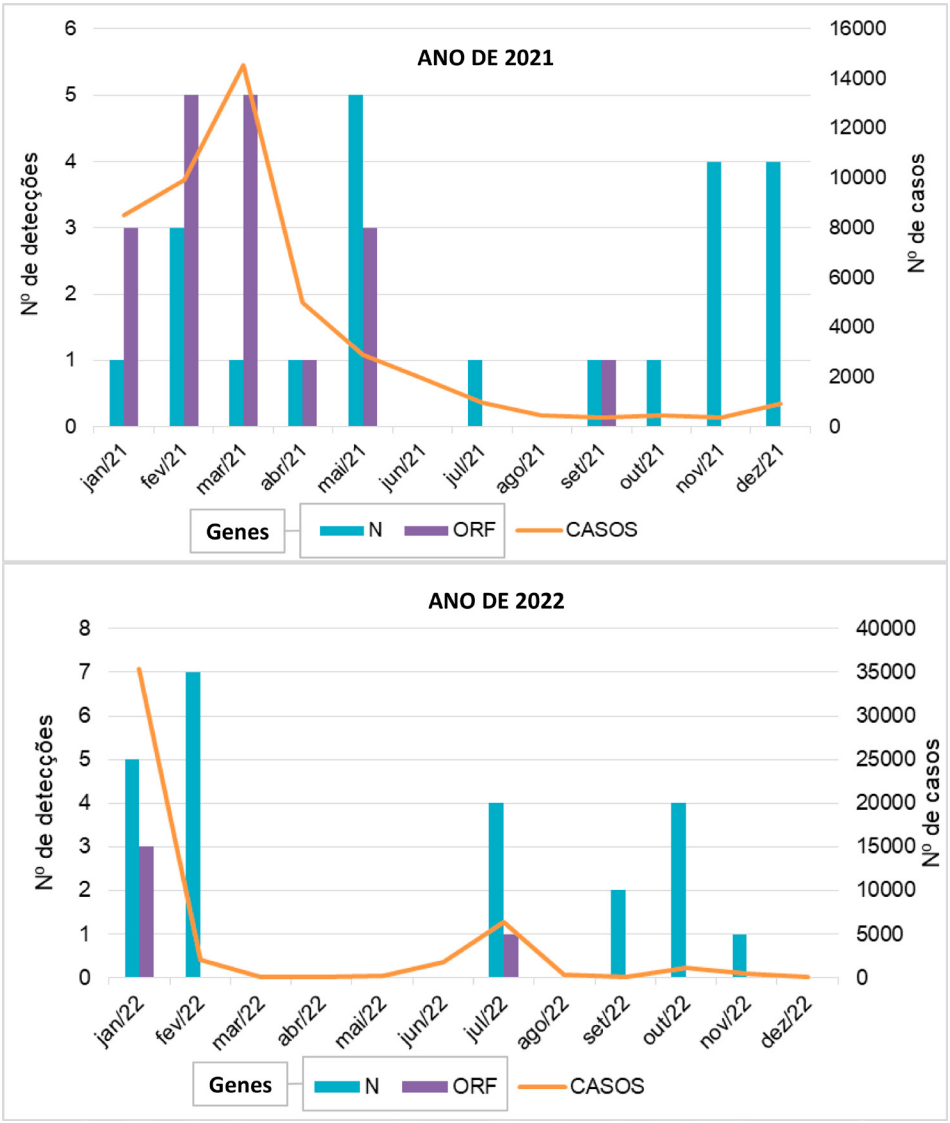


Figura 3 – Distribuição temporal das detecções de SARS-CoV-2, segundo os genes N e ORF, em águas superficiais da cidade de Belém, estado do Pará, entre 2021 e 2022

TESTE DE NORMALIDADE

A análise de normalidade foi aplicada às variáveis número de casos, óbitos e amostras positivas mensais. Os resultados indicaram ausência de distribuição normal para todas as variáveis avaliadas (Tabela 3).

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE SPEARMAN (R_S)

Em 2021, verificou-se forte correlação positiva e significativa entre o número de casos e óbitos (r_s = 0,88811; p = 0,00011413). O gene N não apresentou correlação significativa com casos (r_s = 0,056209; p = 0,86225) nem com óbitos (r_s = –0,10492; p = 0,74554). Em contraste, o gene ORF1ab apresentou correlação positiva forte e significativa tanto com os casos (r_s = 0,73595; p = 0,0063587) quanto com os óbitos (r_s = 0,78101; p = 0,0027099).

Para 2022, a correlação entre número de casos e óbitos foi positiva, moderada e estatisticamente significativa (r_s = 0,69825; p = 0,011552). Tanto o gene N quanto o gene ORF1ab apresentaram correlação moderada e significativa com o número de casos: r_s = 0,66194 (p = 0,019033) e r_s = 0,65044 (p = 0,022009), respectivamente (Tabela 4).

MODELO DE REGRESSÃO LINEAR SIMPLES

As análises de regressão foram aplicadas às variáveis com correlações estatisticamente significativas. Em 2021, observou-se que os números de casos explicaram 60,98% da variação nos óbitos (R^2 = 0,6098; p = 0,0030). A presença do gene ORF1ab explicou 81,69% da variação no número de casos (R^2 = 0,8169; p = 0,0002) e 33,90% da variação nos óbitos (R^2 = 0,3390; p = 0,0451).

Em 2022, a regressão indicou que 32,03% da variação nos óbitos foi explicada pelo número de casos (R^2 = 0,3203; p = 0,0530), enquanto 67,97% foram atribuídos a outros fatores. A regressão entre o gene ORF1ab e os casos mostrou forte associação (R^2 = 0,9691; p < 0,0001), reforçando o potencial da vigilância ambiental como ferramenta de apoio à saúde pública. Não foram observadas associações significativas entre o gene ORF1ab e os óbitos (R^2 = 0,2902; p = 0,0684) nem entre ORF1ab e gene N (R^2 = 0,2215; p = 0,1199).

Tabela 3 – Resultados do teste de normalidade (Shapiro–Wilk) aplicado aos dados de casos e óbitos por COVID-19 notificados pela SESPA, bem como às detecções dos genes N e ORF em amostras de águas superficiais coletadas em canais urbanos de Belém, estado do Pará, nos anos de 2021 e 2022

	N	Shapiro–Wilk (W)	p-valor
Casos 2021	12	0,7790	0,005463
Óbitos 2021	12	0,6735	0,0004734
Gene N 2021	12	0,8178	0,015030
Gene ORF 2021	12	0,7564	0,003118
Casos 2022	12	0,4464	0,007310
Óbitos 2022	12	0,7055	0,0009522
Gene N 2022	12	0,7928	0,007771
Gene ORF 2022	12	0,4500	0,007740

Tabela 4 – Coeficientes de correlação de Spearman entre número de casos e óbitos por COVID-19 e a detecção dos genes N e ORF em amostras ambientais nos anos de 2021 e 2022

Correlação de Spearman	r_s (2021)	p-valor (2021)	r_s (2022)	p-valor (2022)
Casos × Óbitos	0.88811	0.000114	0.69825	0.011552
Casos × Detecção N	0.056209	0.86225	0.66194	0.019033
Óbitos × Detecção N	0.10492	0.74554	0.49351	0.103000
Casos × Detecção ORF	0.73595	0.006359	0.65044	0.022009
Óbitos × Detecção ORF	0.78101	0.002710	0.52326	0.080846
Detecção N × Detecção ORF	0.24950	0.43419	0.52609	0.078929

r_s: coeficiente de correlação de Spearman

Para o gene N, embora tenha apresentado significância na correlação com os casos, a regressão não foi estatisticamente significativa ($R^2 = 0,2262$; $p = 0,1155$). Entretanto, observou-se associação significativa entre o gene N e os óbitos, explicando 66,70% da variação ($R^2 = 0,6670$; $p = 0,0015$).

GENES VIRAIS, FATORES ABIÓTICOS E INDICADORES MICROBIOLÓGICOS

A análise entre a detecção do RNA do SARS-CoV-2 e os parâmetros físico-químicos mostrou que apenas o gene N apresentou correlação significativa com temperatura ($r_s = 0,33386$; $p = 0,001912$), oxigênio dissolvido ($r_s = 0,24508$; $p = 0,024645$) e turbidez ($r_s = –0,28527$; $p = 0,033078$). Não foram observadas correlações significativas entre a média mensal de precipitação e a detecção viral ($r_s = –0,050145$; $p = 0,816$).

A regressão linear simples entre temperatura e detecção do gene N resultou em $R^2 = 0,15194$ ($p = 0,0002607$), indicando que 15,19% da variação está relacionada à temperatura da água.

Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre os indicadores microbiológicos (CTT e *E. coli*) e a presença do RNA viral nas amostras analisadas.

DISCUSSÃO

O presente estudo investigou três pilares fundamentais: a detecção do SARS-CoV-2 em águas superficiais, sua relação com variáveis ambientais e microbiológicas e sua correlação com indicadores epidemiológicos. Conduzido em Belém, capital do estado do Pará e importante centro urbano da Amazônia, o estudo contribui para a compreensão da circulação ambiental do SARS-CoV-2 em um contexto marcado por vulnerabilidade hídrica e sanitária.

O panorama do saneamento básico em Belém demonstra um desequilíbrio significativo entre diferentes indicadores de acesso. O abastecimento de água atinge 95,52% da população, superando a média nacional (83,1%)[20]. Entretanto, a persistência de 19.330 habitantes sem acesso à água encanada evidencia um paradoxo em uma região caracterizada pela elevada disponibilidade hídrica. Conforme destacado na literatura[21], essa situação decorre da má gestão dos recursos e do investimento insuficiente em infraestrutura.

O esgotamento sanitário constitui o principal desafio do município. A coleta de esgoto alcança apenas 19,34% dos domicílios, situando Belém entre as dez capitais brasileiras com pior desempenho e

muito abaixo da média nacional (55,2%)[20]. Como consequência, grande parte do esgoto é lançada *in natura* em corpos hídricos, ampliando a contaminação ambiental. O tratamento de esgoto beneficia somente 27,51% da população[20]. Essa deficiência implica riscos diretos, como o comprometimento da qualidade da água bruta, o encarecimento do tratamento para abastecimento, o aumento da proliferação de vetores e a maior incidência de doenças de veiculação hídrica[22].

Em áreas com baixa cobertura de esgotamento sanitário, a vigilância baseada em esgoto enfrenta limitações operacionais e logísticas. Nesse cenário, o uso de águas superficiais como matriz alternativa mostra-se relevante para subsidiar estratégias de vigilância em saúde, especialmente em áreas periféricas e estruturalmente vulneráveis.

Todas as amostras apresentaram concentrações acima dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 274/2000 para coliformes termotolerantes. Esses resultados superaram os observados em estudos locais, como os de Paredes[23] e Pereira[24], que relataram inadequação em 78% e 75% das amostras, respectivamente. As concentrações elevadas encontradas, com valores de CTT superiores aos de *Escherichia coli*, corroboram os achados de Pereira[24]. Essa contaminação microbiológica reforça a impropriedade das águas analisadas para consumo e recreação, sendo preocupante seu uso para balneabilidade por moradores de áreas periféricas[25]. Esses achados refletem as limitações no saneamento básico e a persistente crise sanitária relacionada ao esgotamento urbano.

A detecção do SARS-CoV-2 foi realizada por meio dos genes N e ORF1ab, observando-se maior frequência de positividade para o gene N, achado consistente com estudos como os de Wani[26], que identificaram maior sensibilidade do gene N1 em comparação aos alvos ORF1b-nsp14 e RdRp. Zhang[27] também observaram maior positividade clínica para o gene N, enquanto Wang[28] destacaram maior estabilidade desse gene decorrente de menor taxa de mutações em suas regiões-alvo. Essa estabilidade pode explicar sua maior detecção neste estudo.

A troca de kits em outubro de 2022, com adoção de novos primers e sondas para o gene N (Metabion®), pode ter influenciado a queda na detecção do gene ORF1ab no período. Embora essa hipótese não possa ser confirmada com os dados disponíveis, reforça-se a importância da padronização metodológica em estudos de vigilância ambiental.

A variação dos valores de CT observada nos diferentes genes está de acordo com achados de Ahmed[29] e Kocamemi[30], que relataram CTs elevados em amostras ambientais. Esse padrão é esperado devido à baixa carga viral e à degradação do RNA por fatores físico-químicos[26,27].

Em 2021, observou-se forte correlação positiva entre casos e óbitos, mas nenhuma associação significativa entre esses desfechos e a detecção do gene N. Em contraste, o gene ORF1ab apresentou correlação positiva significativa com casos e óbitos, similar ao observado por Ahmed[29] na Suíça e por Silva[31] em Minas Gerais. A regressão demonstrou que a presença do gene ORF1ab explicou 81,69% da variação no número de casos e 33,90% da variação no número de óbitos. Embora esses achados sugiram possível associação com maior gravidade da doença, tal hipótese não pode ser inferida exclusivamente a partir de dados ambientais e exige validação clínica.

Estudos como os de La Rosa[32], Wurtzer[33] e Dutra[11] também relataram correlação entre níveis de RNA viral e aumento de casos clínicos, reforçando o potencial do monitoramento ambiental como ferramenta complementar à vigilância epidemiológica.

A detecção do vírus foi mais frequente nos meses de janeiro, fevereiro, maio, julho e dezembro, coincidindo com o período chuvoso, quando se observa aumento de infecções respiratórias[34]. Tendências semelhantes foram registradas por Castiglioni[35] na Itália, Ahmed[29] na Austrália e Gerrity[36] nos Estados Unidos. No Brasil, nas regiões Centro-Sul e Sudeste, o aumento de casos costuma ocorrer nos meses mais frios e chuvosos (abril a julho), período de maior circulação de vírus respiratórios[37].

Apesar da hipótese de que a precipitação influenciaria a carga viral ambiental, não foi observada associação significativa entre níveis de chuva e detecção do SARS-CoV-2 neste estudo, achado que contrasta com estudos realizados em regiões temperadas[38]. A temperatura foi a única variável ambiental com associação significativa, em consonância com revisões que apontam maior persistência viral em temperaturas mais baixas[39,40].

A elevada frequência de detecção viral em pontos com maior densidade populacional e ausência de saneamento, como o ponto 06, reforça a relação entre desigualdade no acesso à infraestrutura sanitária e riscos à saúde pública. Conforme Martins[41], áreas urbanas com baixa cobertura de saneamento são mais vulneráveis a desfechos sanitários adversos. Ferreira, Silva e Figueiredo Filho[42] demonstraram que regiões com melhor saneamento apresentam menor incidência e mortalidade por COVID-19, e Guedes[43] também identificaram correlação negativa entre saneamento e casos e óbitos.

A ausência de associação entre os indicadores microbiológicos (*E. coli* e CTT) e a detecção do RNA viral sugere que esses agentes seguem dinâmicas distintas quanto a entrada, persistência e detecção no ambiente[44]. A diferença entre rotas de entrada, sensibilidade ambiental do vírus envelopado e métodos de detecção (RNA viral *vs.* células viáveis) explica essa dissociação e reforça a necessidade de abordagens multivariadas para vigilância ambiental.

Apesar dos achados, o estudo apresenta limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. A sensibilidade dos métodos moleculares, embora adequada para a detecção de fragmentos

de RNA viral, pode ter sido afetada por variações na eficiência dos kits e por condições ambientais adversas que favorecem a degradação do material genético, como radiação UV, temperatura elevada, pH extremo e presença de substâncias químicas, cujas quais não foram avaliadas.

Além disso, a detecção do RNA viral por RT-qPCR não permite inferir infectividade, uma vez que fragmentos genômicos podem persistir mesmo após perda da viabilidade viral. A ausência de ensaios complementares, como cultivo viral ou avaliação da integridade do capsídeo, impede conclusões definitivas sobre o risco associado às águas analisadas. Esses aspectos reforçam a necessidade de estudos integrados que combinem técnicas moleculares, virológicas e ambientais em estudos futuros para detecção de SARS-CoV-2 no ambiente.

CONCLUSÃO

Este estudo, conduzido na região amazônica, evidencia a importância da vigilância ambiental em águas superficiais como estratégia complementar e eficaz para o monitoramento de vírus em contextos urbanos caracterizados por infraestrutura sanitária precária. A detecção do RNA do SARS-CoV-2 em canais urbanos de Belém evidencia os riscos sanitários associados à exposição a corpos hídricos contaminados, especialmente entre populações vulneráveis que residem em áreas periféricas. Os achados reforçam o potencial da virologia ambiental como ferramenta essencial para subsidiar políticas públicas orientadas à prevenção, mitigação de riscos e redução das desigualdades sanitárias.

Em cenários de pandemia ou outras emergências de saúde pública, o uso de águas residuais e superficiais como matrizes de monitoramento permite gerar informações estratégicas sobre a circulação viral em tempo real, inclusive em situações de escassez de dados clínicos. Nesse contexto, recomenda-se a implementação de programas permanentes de vigilância ambiental em corpos d'água urbanos, articulados ao fortalecimento das redes de coleta e tratamento de esgoto. Essas ações constituem medidas urgentes e prioritárias para garantir a segurança hídrica e proteger a saúde pública em regiões altamente vulneráveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à equipe do Laboratório de Vírus Gastroentéricos (LVG) pela coordenação do projeto em sua fase inicial, bem como ao Laboratório de Indicadores Físico-Químicos de Qualidade da Água da Seção de Meio Ambiente (IEC) pelo suporte técnico prestado. Agradecem, ainda, ao Setor de Transportes (SOTRA), em especial a Fagner Jucá, Adelson Silva, Sidney Cardias, José Almir, Wanderson Assis e Manoel Miranda, pelo apoio logístico essencial às atividades de coleta de amostras.

APOIO FINANCEIRO

Esta pesquisa foi financiada pelo Instituto Evandro Chagas (IEC), Ministério da Saúde, Brasil. Os autores DSASS e JAMS foram contemplados com bolsas de pesquisa concedidas pela Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Saúde (FIOTEC/FIOCRUZ), no âmbito do projeto DIREX-003-FIO-24.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

GKCB, DSASS, VBSC e JAMS realizaram a coleta de campo. DSASS, VBSC, GKCB participaram das análises laboratoriais para detecção viral. BML, GKCB e DSASS conduziram as análises microbiológicas e físico-químicas. FESS orientou as análises estatísticas. GKCB interpretou os dados e escreveu a versão original do manuscrito. JAMS revisou e aperfeiçoou a versão original do manuscrito. LLCSM coordenou o projeto e supervisionou as análises realizadas.

REFERÊNCIAS

1 Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, et al. Clinical features, diagnosis, and treatment of COVID-19: a systematic review of current evidence. Rev Med Virol. 2021; 31(1):e2195.

2 Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med. 2020; 382(8):727-33.

3 Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol. 2019; 17(3):181-92.

4 Sanchez-Chicana MA, Ballesteros I, Méndez J, Cortés V, López M, Hidalgo C, et al. Advances in environmental surveillance for SARS-CoV-2: trends and future perspectives. Environ Res. 2024; 240:117823.

5 Ashraf MA, Hussain I, Rasheed R, Iqbal MJ, Riaz S, Bashir F, et al. Environmental challenges and COVID-19 pandemic: an overview of impacts and strategies for mitigation. Environ Res. 2020; 193:110503.

6 Kim JM, Kim HM, Lee EJ, Jo HJ, Yoon Y, Lee NJ, et al. Detection and isolation of SARS-CoV-2 in serum, urine, and stool specimens of COVID-19 patients from the Republic of Korea. Osong Public Health Res Perspect. 2020; 11(3):112-7.

7 La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Bonanno Ferraro G, Veneri C, Bonadonna L, et al. First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. Sci Total Environ. 2020; 736:139652.

8 Farkas K, Hillary LS, Malham SK, McDonald JE, Jones DL. Wastewater and public health: the potential of wastewater surveillance for monitoring COVID-19. Water Res. 2021; 202:117438.

9 Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. Sci Total Environ. 2020; 728:138764.

10 Sherchan SP, Shahin S, Ward LM, Tandukar S, Aw TG, Schmitz B, et al. First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: a study in Louisiana, USA. Sci Total Environ. 2020; 743:140621.

11 Dutra LB, Fumian TM, Silva A, Maranhão AG, Miagostovich MP, Paiva TM, et al. Environmental monitoring of SARS-CoV-2 in the metropolitan area of Porto Alegre, Rio Grande do Sul (RS), Brazil. Environ Sci Pollut Res Int. 2024; 31(2):2129-44.

12 Cervantes-Avil E, Rodríguez-González R, López-Macías C, Mena KD, Durán-Morales E, Moreno-Valenzuela OA, et al. Wastewater-based epidemiology for COVID-19: current status and future prospects. Sci Total Environ. 2021; 774:145171.

13 Brito FSL, Dias JP, Lima KSB, Pinheiro MNL, Pereira LCC, Costa GS, et al. Drenagem urbana e sua influência na epidemiologia de leptospirose na cidade de Belém–Região Amazônica do Estado do Pará. Rev Geogr (Recife). 2020; 37(3).

14 Belém. Prefeitura Municipal. Plano municipal de saneamento básico de abastecimento de água e esgoto sanitário de Belém [Internet]. Belém; 2014 [cited 2022 Nov 10]. v.1. Available from: http://ww3.belem.pa.gov.br/www/wp-content/uploads/PMSB-Bel%C3%A9m-PA_Volume-I.pdf.

15 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo Demográfico 2022. Rio de Janeiro: IBGE; 2022.

16 American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater. 24th ed. Washington (DC): APHA; 2022.

17 Calgua B, Barardi CRM, Bofill-Mas S, Rodriguez-Manzano J, Girones R. Development and application of a one-step low-cost procedure for virus concentration from seawater samples. J Virol Methods. 2008; 153:79-83.

18 Pará. Secretaria de Saúde. Coronavírus no Pará. Disponível em: <https://www.covid-19.pa.gov.br/#/>. Acesso em: 22 maio 2024.

19 INMET. Portal do Instituto Nacional de Meteorologia. Brasília, 2024. Disponível em: <https://tempo.inmet.gov.br/TabelaEstacoes/A001>. Acesso em: 15 mai. 2024.

20 Instituto Trata Brasil. Ranking do Saneamento 2025. 2025. Disponível em: https://tratabrasil.org.br/wp-content/uploads/2025/07/Versao-Final-de-Estudo-da-GO-Associados-Ranking-do-Saneamento-de-2025_Rio-Corrigido-V4.pdf. Acesso em: 22 out 2025.

21 Bordalo CA. O paradoxo da água na região das águas: o caso da Amazônia brasileira. GEOUSP Espaço e Tempo (Online), v. 21, n. 1, p. 120-137, 2017.

22 Silva YP, Brito FSL, Gomes NCR. Correlação linear entre saneamento básico, precipitação pluviométrica e casos de dengue na cidade de Belém-PA - 2001 a 2017. Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 30.; Natal, 2019. Anais Eletrônicos[...]. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES), 2019. Disponível em: https://www.saneamentobasico.com.br/wp-content/uploads/2020/04/VII-067.pdf. Acesso em: 24 abr. 2024.

23 Paredes BMM. Avaliação da qualidade da água superficial do canal São Joaquim, Belém-PA [dissertação]. Belém (PA): Universidade Federal do Pará; 2016.

24 Pereira PS. Detecção de SARS-CoV-2 em matrizes ambientais no sudeste do Brasil [tese]. Niterói (RJ): Universidade Federal Fluminense; 2022.

25 Soares PPMA. A cidade e suas margens: memória e práticas da água na Bacia do Una, em Belém (PA). Amazon Rev Antropol. 2021; 13(2):577-607.

26 Wani H, Naqvi RA, Nisar S, Khan I, Ahmad M, Syed NA, et al. Wastewater-based epidemiology of SARS-CoV-2: assessing prevalence and correlation with clinical cases. Food Environ Virol. 2023; 15(2):131-43.

27 Zhang X, Tan Y, Ling Y, Lu G, Liu F, Yi Z, et al. The N gene of SARS-CoV-2 was the main positive component in repositive samples from a cohort of COVID-19 patients in Wuhan, China. Clin Chim Acta. 2020; 511:291-7.

28 Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. JAMA. 2020; 323(18):1843-4.

29 Ahmed W, Bivins A, Bertsch PM, Bibby K, Farkas K, Gathercole A, et al. SARS-CoV-2 RNA monitoring in wastewater as a potential early warning system for COVID-19 transmission in the community: a temporal case study. Sci Total Environ. 2021; 761:144216.

30 Kocamemi BA, Kurt H, Hacioglu S, Yarali C, Saatci AM, Pakdemirli B. First data-set on SARS-CoV-2 detection for Istanbul wastewaters in Turkey. medRxiv [Preprint]. 2020.

31 Silva TGM. Vigilância de SARS-CoV-2 em águas residuais e a inter-relação com indicadores epidemiológicos da COVID-19 em Diamantina-MG [dissertação]. Diamantina (MG): Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; 2023.

32 La Rosa G, Della Libera S, Iaconelli M, Ciccaglione AR, Bruni R, Taffon S, et al. Surveillance of hepatitis A virus in urban sewages and comparison with cases notified in the course of an outbreak, Italy 2013. BMC Infect Dis. 2014; 14(1):419.

33 Wurtzer S, Marechal V, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, et al. Time course quantitative detection of SARS-CoV-2 in Parisian wastewaters correlates with COVID-19 confirmed cases. medRxiv [Preprint]. 2020.

34 Santos MRP, Oliveira LC, Farias HS, Souza GS, Santos JT, Costa WS, et al. Dinâmica espaço-temporal: condições atmosféricas versus manifestações de doenças respiratórias no Baixo Amazonas e Sudoeste do Pará. Rev Bras Geogr Fis. 2021; 14(5):2790-805.

35 Castiglioni S, Ferraro GB, Scolamiero E, Cameletti M, Manenti A, La Rosa G, et al. SARS-CoV-2 RNA in urban wastewater samples to monitor the COVID-19 pandemic in Lombardy, Italy (March–June 2020). Sci Total Environ. 2022; 806:150816.

36 Gerrity D, Papp K, Stoker M, Sims A, Frehner W. Early-pandemic wastewater surveillance of SARS-CoV-2 in Southern Nevada: methodology, occurrence, and incidence/prevalence considerations. Water Res X. 2021; 10:100086.

37 Claro ICM, Cabral AD, Augusto MR, Duran AFA, Graciosa MCP, Fonseca FLA, Speranca MA, Bueno RF. Long-term monitoring of SARS-COV-2 RNA in wastewater in Brazil: A more responsive and economical approach. Water Res. 2021 Sep 15;203:117534. Epub 2021 Aug 8. PMID: 34388493; PMCID: PMC8349564.

38 Jansson MK, Yamamoto S. The effect of temperature, humidity, precipitation and cloud coverage on the risk of COVID-19 infection in temperate regions of the USA—a case-crossover study. PLoS One. 2022;17(9):e0273511.

39 Silverman AI, Boehm AB. Systematic review and meta-analysis of the persistence and disinfection of human coronaviruses and their viral surrogates in water and wastewater. Environ Sci Technol Lett. 2020; 7(8):544-53.

40 Oliveira LC, Torres-Franco AF, Lopes BC, Santos BS, Costa EA, Costa MS, et al. Viability of SARS-CoV-2 in river water and wastewater at different temperatures and solids content. Water Res. 2021; 195:117002.

41 Martins AS, Silveira IH, Silva LL, Martelli-Júnior H, Oliveira R, Lima KC. Concessão privatista do saneamento e a incidência da Covid-19 em favelas do Rio de Janeiro. Saúde Debate. 2021; 45(spe2):82-91.

42 Ferreira D, Silva L, Figueiredo Filho DB. Saneamento importa? Uma análise da relação entre condições sanitárias e COVID-19 nas capitais brasileiras. Eng Sanit Ambient. 2021; 26:1079-84.

43 Guedes WP, Sugahara CR, Ferreira DHL. Índice de saneamento ambiental e Covid-19: uma análise nas capitais brasileiras. Rev Bras Gest Desenv Reg. 2023; 19(3).

44 Acer PT, Kelly LM, Lover AA, Butler CS. Quantifying the relationship between SARS-CoV-2 wastewater concentrations and building-level COVID-19 prevalence at an isolation residence: a passive sampling approach. Int J Environ Res Public Health. 2022; 19(18): 11245.

Recebido em / Received: 31/8/2025
Aceito em / Accepted: 8/10/2025

Este artigo compõe a Seção Temática "Saúde e Meio Ambiente na Pan-Amazônia: Ciência, Território e Resistência em tempos de crise climática" em alusão à 30ª Conferência das Nações Unidas sobre Mudanças Climáticas (COP 30).

Como citar este artigo / How to cite this article:

Batista GKC, Santos DSAS, Coimbra VBS, Luz BM, Sagica FES, Siqueira JAM, et al. Diagnóstico ambiental de SARS-CoV-2: correlação viral com fatores bióticos e abióticos em águas superficiais do centro urbano de Belém, estado do Pará, Brasil. Rev Pan Amaz Saude. 2025;16:e202501786. Doi: https://doi.org/10.5123/S2176-6223202501786