



Deteção de adenovírus em águas superficiais dos Arroios Pinhal e Tega, Caxias do Sul-RS

**Viviane Girardi¹, Nádia Goulart², Vania Elisabete Schneider³,
Taison Bortolin⁴ e Suelen O. Paesi⁵**

¹ Universidade Feevale (vivi.girardi@hotmail.com)

² Universidade de Caxias do Sul (nadiagoulart@hotmail.com)

³ Universidade de Caxias do Sul (vschnei@ucs.br)

⁴ Universidade de Caxias do Sul (taisonbortolin@yahoo.com.br)

⁵ Universidade de Caxias do Sul (sopaesi@ucs.br)

Resumo

Os vírus entéricos são frequentemente encontrados em águas superficiais em todo o mundo. Os adenovírus (AdV) são vírus entéricos causadores de diversas doenças aos seres humanos e animais. Eles são eliminados nas fezes e podem ser usados como marcadores de contaminação fecal na água. Este estudo objetivou avaliar a ocorrência de AdV em amostras de águas superficiais dos Arroios Tega e Pinhal da cidade de Caxias do Sul. Amostras bimestrais de água foram coletadas de 2013 a 2014 ao longo de três pontos do Arroio Pinhal e cinco pontos do Arroio Tega. Foram realizadas análises utilizando PCR convencional para detecção de adenovírus humano do tipo C (HAdV-C). AdV foi detectado ao longo dos pontos amostrais nos dois arroios estudados, sendo 66% de amostras positivas no Arroio Pinhal e 24% no Arroio Tega, indicando contaminação fecal e ineficiência do tratamento de águas residuais.

Palavras-chave: Adenovírus. Arroio Pinhal. Arroio Tega.

Área Temática: Saúde Ambiental.

Adenovirus detection in surface water of the Arroio Pinhal and Tega, Caxias do Sul-RS

Abstract

Enteric viruses are often found in surface water around the world. Adenovirus (AdV) are causative viruses of various enteric diseases to humans and animals. They are eliminated in the feces and can be used as markers of faecal contamination in water. This study aimed to evaluate the occurrence of AdV in surface water samples from the Arroios Tega and Pinhal city of Caxias do Sul. Bimonthly samples of water were collected 2013-2014 over three points of the Arroio Pinhal and five points behind Arroio Tega. Analyses were performed using standard PCR for the detection of human adenovirus type C (HAdV-C). AdV was detected over the sampling points in both studied streams, 66% of positive samples in Arroio Pinhal and 24% in Arroio Tega, indicating fecal contamination and inefficiency of the wastewater treatment.



Key words: Adenovirus. Arroio Pinhal. Arroio Tega

Theme Area: Environmental Health.

1 Introdução

Infecções virais transmitidas pela água são umas das causas mais importantes de morbidade humana. Os vírus presentes na água causam agravos como a gastroenterite e podem influenciar diretamente a incidência de doenças em uma região que usa arroios para abastecimento de água. Esses vírus, de origem entérica, podem contaminar os corpos d'água e potencializar a contaminação fecal oral.

Os adenovírus (AdV) são a segunda principal causa de gastroenterite infantil em vários países. São vírus entéricos que pertencem à família Adenoviridae, possuem genoma DNA fita dupla e compreendem cerca de 57 sorotipos divididos em sete espécies A-G (BERK, 2007; MATSUSHIMA et al., 2013).

Em geral, a gastroenterite associada a adenovírus é tão prevalente quanto a causada por rotavírus e ocorre frequentemente em crianças menores de quatro anos, caracterizando-se como uma doença branda com diarreia e vômito. Em países de clima tropical como o Brasil, adenovírus veiculados pela água têm sido detectados durante todos os meses do ano (HORWITZ, 1996; MEHNERT et al., 1999).

O município de Caxias do Sul está localizado ao sul do Brasil, com cerca de 470 mil habitantes, sendo o segundo polo metal-mecânico do país com o maior índice de desenvolvimento sócio econômico do estado. Contudo, este município registra altos índices de gastroenterite e, os registros de notificações compulsórias do agravo são maiores nos meses de inverno.

Caxias do Sul tem o abastecimento de água baseada na captação dos cursos d'água pertencentes a bacias hidrográficas Cai e Taquari-Antas. Nelas estão contidos os arroios Belo, Pinhal, Faxinal, Piaí e Tega. Todos esses cursos d'água têm suas nascentes no território do município e desaguam em ambientes rurais.

O Arroio Pinhal nasce na zona urbana de Caxias do Sul corre à margem da rodovia BR-116, passando por Galópolis, onde está localizada a Cascata Véu de Noiva. Este arroio drena a região sul do município de Caxias do Sul.

O Arroio Tega passa pelo o centro urbano de Caxias do Sul e recebe efluente tanto de origem doméstica quanto industrial.

No Brasil, a avaliação microbiológica da qualidade de águas superficiais é regulamentada por leis federais que definem a classificação da água para diferentes usos. A Portaria 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005) estabelece os padrões microbiológicos da água para diferentes fins, com base nos valores de coliformes termotolerantes.

A detecção viral é realizada somente em casos de surtos de gastroenterites (BRASIL, 2011). No entanto, estes métodos têm se mostrado insuficientes, pois estes microrganismos podem não atestar o risco de infecção por outros patógenos, tais como os vírus, que são mais resistentes à degradação do que as bactérias no ambiente. Além do mais, os vírus podem ser encontrados em águas onde a contagem bacteriana está dentro dos padrões de qualidade (FONG et al., 2005).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é identificar a presença de adenovírus em diferentes pontos de coletas dos Arroios Pinhal e Tega de Caxias do Sul em diferentes períodos sazonais. Este estudo poderá induzir uma reorientação dos aspectos legais da qualificação da água e poderá modificar ações e saúde pública de forma preventiva e curativa.

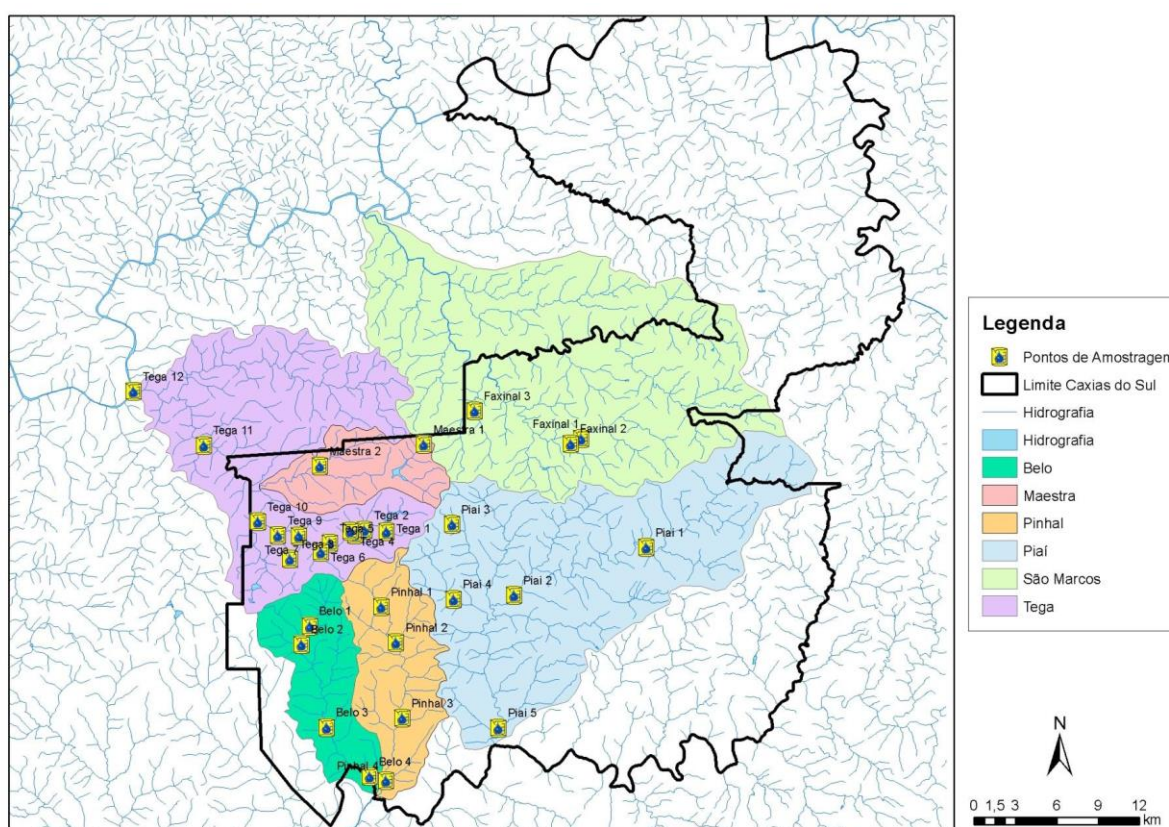


2 Metodologia

2.1 Local e coleta das amostras

Foram realizadas cinco coletas de amostras de água superficial no período de Março de 2013 a Maio de 2014 em três locais distintos ao longo do Arroio Pinhal e cinco locais do Arroio Tega (Figura 1).

Figura 1: Localização da área de estudo e pontos de amostragem ao longo do Arroio Pinhal e Arroio Tega (Fonte: SCHNEIDER et al., 2012).



2.2 Concentração e extração viral das amostras

Para a etapa da concentração viral das amostras foi utilizado o método de adsorção-eluição em que é usada uma membrana com carga negativa descrito por Katayama et al., 2002, com alterações de acordo com Dalla Vecchia et al., 2009.

A extração do DNA viral foi realizada por meio do kit de extração (RTP® DNA/RNA Virus Mini Kit – Invitex®) seguindo o protocolo descrito pelo fabricante.

2.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A análise de AdV foi através de PCR convencional por eletroforese em gel de agarose utilizando o par de oligonucleotídeos VTB2- HAdVCf e VTB2-HAdVCr. O primer VTB2



tem como alvo a sequência parcial do gene hexon que é conservada entre as espécies de HAdV-C (WOLF et al.,2010).

3 Resultados e Discussão

3.1 Arroio Pinhal

AdV humano foi detectado ao longo de todo o percurso do Arroio Pinhal (Tabela 1), nos diferentes meses de coleta. Foram identificadas dez amostras positivas de um total de 15, representando 66%. Como pode ser observado na Tabela 1, ao comparar o número de amostras positivas nos diferentes locais de amostragem, pode-se afirmar que os pontos de coletas 1 e 2 foram os que apresentaram maior frequência de amostras positivas nos diferentes meses de coleta. Esses resultados podem ter sido devido à densidade populacional que é maior nestes dois locais, o que contribui para o aumento de lançamento de efluentes de origem doméstica potencializando a contaminação da água.

Tabela1: Resultados das análises de adenovírus humano nos diferentes locais de amostragem e datas das coletas do Arroio Pinhal.

	Local 1	Local 2	Local 3
Coleta 1	-	+	-
08/07/2013			
Coleta 2	+	+	-
09/09/2013			
Coleta 3	+	+	+
27/01/2014			
Coleta 4	+	-	-
01/04/2014			
Coleta 5	+	+	+
14/05/2014			

NA: Não analisado; -: amostras negativas para a detecção de adenovírus;
+: amostras positivas para a detecção de adenovírus.

3.1 Arroio Tega

Em relação ao Arroio Tega, ao longo das cinco coletas em um total de 25 amostras coletadas foram detectadas 6 amostras positivas para a presença de AdV, representando 24% (Tabela 2).

O Arroio Tega corta a cidade de Caxias do Sul de norte a sul, passando pelo centro urbano, recebendo efluentes domésticos e industriais da população em torno. Nesses efluentes



há, por exemplo, a presença de metais e outras substâncias que são inibidores de análise de PCR, o que procede a resultados falsos negativos para AdV. Provavelmente devido a isso, quando comparamos os arroios em estudo, o Arroio Tega apresentou menor porcentagem de amostras positivas para AdV.

Tabela2: Resultados das análises de adenovírus humano nos diferentes locais de amostragem e datas das coletas do Arroio Tega.

	Local 1	Local 2	Local 3	Local 4	Local 5
Coleta 1	-	-	-	-	-
25/03/2013					
Coleta 2	+	+	-	+	-
11/07/2013					
Coleta 3	+	-	+	-	-
11/09/2013					
Coleta 4	+	-	NA	NA	NA
30/01/2014					
Coleta 5	-	-	-	-	-
14/05/14					

NA: Não analisado; -: amostras negativas para a detecção de adenovírus; +: amostras positivas para a detecção de adenovírus.

Um fato relevante observado é que a presença de AdV ocorreu praticamente o ano todo, principalmente no Arroio Pinhal, indicando que o vírus não possui sazonalidade, um fator que contribui para o uso como indicador de contaminação fecal. Além de resistir as variações de temperatura, o AdV possui resistência a tratamentos convencionais de água, como os tratamentos clorados que são destinados ao combate de microrganismos bacterianos.

Vírus entéricos humanos são contaminantes comuns encontrados na superfície águas em todo o mundo. Os dados do presente estudo estão de acordo com outros estudos que encontraram taxas de detecção variando de 29 para 96% em águas de superfície na Alemanha, Brasil e Estados Unidos (LEE ET al. 2005;. JURZIK et al. 2010; RIGOTTO et al. 2010; FONGARO et al. 2012; MIAGOSTOVICH et al. 2014; CORSI et al. 2014). Além disso, a presença de contaminação viral de origem fecal, observada neste estudo e os impactos negativos sobre a qualidade da água são causados por diferentes segmentos da sociedade e apresentam riscos à saúde da população e da biodiversidade em vários cenários ambientais.



4 Conclusão

Estes resultados embora preliminares, indicam que a presença de AdV nas águas dos Arroios Pinhal e Tega denuncia a poluição fecal proveniente de fonte humana e prova a ineficácia do tratamento de águas residuais. Além disso, esse é o primeiro estudo em que se mostra a positividade desse vírus em Caxias do Sul. A monitorização da contaminação viral contínua é necessária para evitar surtos de doenças transmitidas pela água e fornecer informações sobre o impacto causado pela ocupação humana e para o uso dos recursos hídricos para a saúde pública.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio financeiro e estrutural da Universidade de Caxias do Sul (UCS), do Instituto de Saneamento Ambiental (ISAM), Universidade Feevale e K & M produtos químicos e laboratoriais.

Referências

APHA, A.W.W.A, WEF. Standard Methods for examination of water and wastewater. 22nd ed. Washington: **American Public Health Association**, 1360 pp., 2012

BERK, A.J. Adenovirus: The viruses and their replication. In: KNIPE, D.M., HOWLEY, P.M. **Fields Virology**. ed. Philadelphia, Pennsylvania: Wolters Kluwer/ Lippincott Williams & Wilkins, Vol. 2, pp. 2356-2358, 2007

DALLA VECCHIA A., FLECK J.D., COMERLATO J., KLUGE M., BERGAMASCHI B., DA SILVA J.V., DA LUZ R.B., TEIXEIRA T.F., GARBINATTO G.N., OLIVEIRA D.V., ZANIN J.G., VAN DER SAND S., FRAZZON A.P., FRANCO A.C., ROEHE P.M., SPILKI F.R. First description of adenovirus, enterovirus, rotavirus and torque teno virus in water samples collected from the Arroio Diluvio, Porto Alegre, Brazil. **Braz J Biol** 72:323–329, 2012.

FONG T-T, LIPP E.K Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: health risks, detection, and potential water quality assessment tools. **Microbiol Mol Biol Rev** 69:357–371, 2002.

FONGARO, G., NASCIMENTO, M.A., RIGOTTO, C., RITTERBUSCH G., SILVA, A., ESTEVES, P.A., BARARDI, C.R.M. Evaluation and molecular characterization of human adenovirus in drinking water supplies: viral integrity and viability assays. **Virology Journal**, 10:166:1-9, 2012.

HORWITZ M.S. Adenoviruses. In: **Virology**, p. 2149-2171. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, Roizman B, Straus SE (eds). Vol.2. Lippincott-Raven, 3rd ed., Philadelphia, USA, 1996.

JURZIK L., HAMZA I. A., PUCHERTB W., ÜBERLAC K., WILHELMA M. Chemical and microbiological parameters as possible indicators for human enteric viruses in surface water. **Int J Hyg Environ Health** 213:210–216, 2012.



KATAYAMA, H., SHIMASAKI, A., OHGAKI, S. Development of a Virus Concentration Method and Its Application to Detection of Enterovirus and Norwalk Virus from Coastal Seawater. **Applied Environment Microbiology**, 68:1033–1039, 2002.

LEE S.H., LEE C., LEE K.W., CHO H.B., KIM S.J. The simultaneous detection of both enteroviruses and adenoviruses in environmental water samples including tap water with an integrated cell culture multiplex-nested PCR procedure. **J Appl Microbiol** 98:1020–1029, 2005.

MATSUSHIMA Y., SCHIMIZU H., KANO A., NAKAJIMA E., ISHIMARU Y., DEY S.K., WATANABE Y., ADACHI F., MITANI K., FUJIMOTO T., PHAN T.G., USHIJIMA H. Genome Sequence of a Novel Virus of the Species Human Adenovirus D Associated with Acute Gastroenteritis. **Genome Announcements**, 1: 1-2, 2013.

MEHNERT, D.U., QUEIROZ, A.P.S., SANTOS, F.M., CANDEIAS, J.M.G., HÁRSI, C.M. Occurrence of human enteric viruses in sewage and surface waters in the city of São Paulo. **Virus Reviews and Research**, 4: 27, 1999.

WOLF, S., HEWITT, J., GREENING, G.E. Viral multiplex quantitative PCR assays for tracking sources of fecal contamination. **Applied and Environmental Microbiology**, 76: 1388-1394, 2010.