

RESSALVA

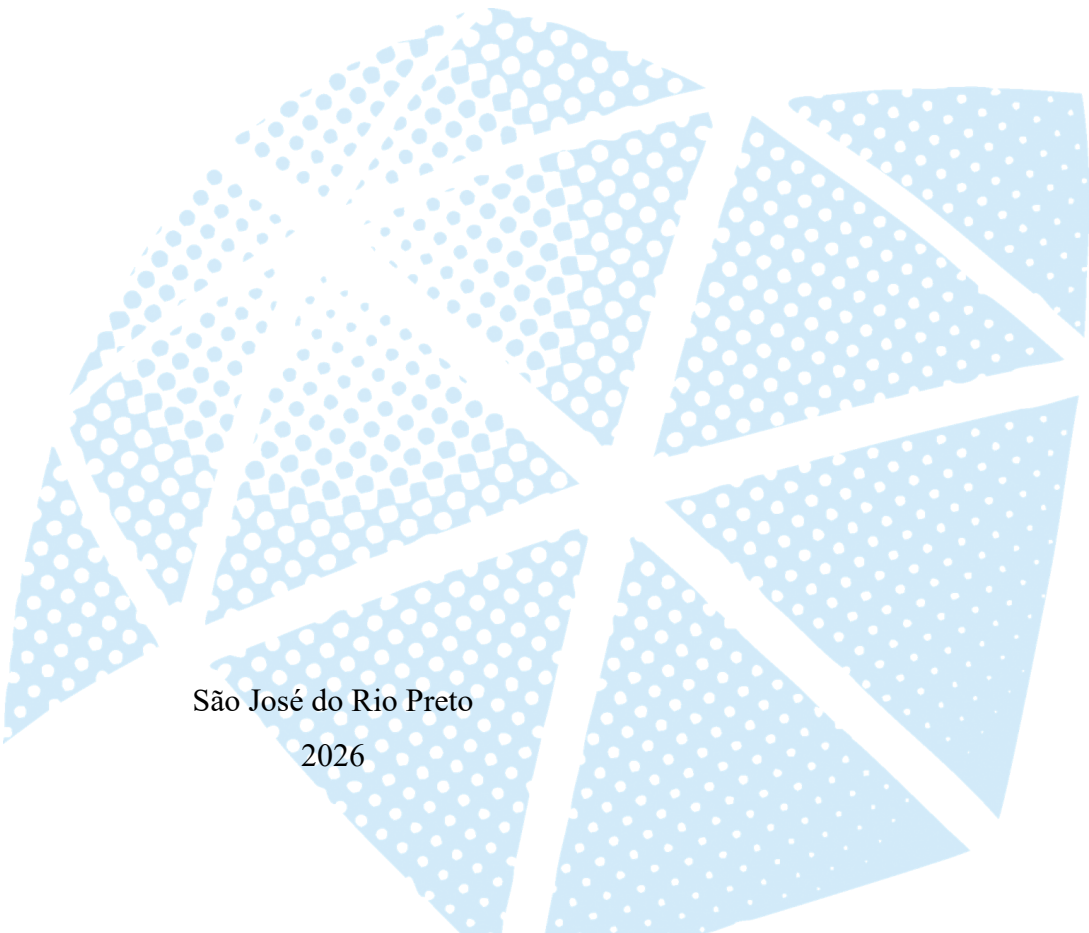
Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/01/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

CAMILA RODRIGUES ROSA

**ANÁLISE DA DETECÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS EM ÁGUAS RESIDUAIS
DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP**

São José do Rio Preto
2026



CAMILA RODRIGUES ROSA

**ANÁLISE DA DETECÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS EM ÁGUAS RESIDUAIS
DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Paula Rahal

Coorientador: Prof. Dr. Vivaldo Gomes da Costa

São José do Rio Preto

2026

R788a Rosa, Camila Rodrigues
Análise da detecção de vírus respiratórios em águas residuais de
São José do Rio Preto - SP / Camila Rodrigues Rosa. -- , 2026
86 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio
Preto,
Orientadora: Paula Rahal
Coorientador: Vivaldo Gomes da Costa

1. Vigilância ambiental. 2. Vírus respiratórios. 3. Águas residuais.
4. Vigilância epidemiológica. 5. Virologia. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O trabalho visa a detecção de vírus respiratórios nas amostras de águas residuais de São José do Rio Preto, identificando quais patógenos respiratórios estão circulando e sua sazonalidade. A vigilância baseada em águas residuais tem se tornado uma importante ferramenta para monitorar a circulação de muitos patógenos, além de servir como alerta precoce para a saúde pública. Essa metodologia é econômica, não invasiva e pode ser utilizada em tempo real para monitorar surtos, assim como, detectar casos assintomáticos. Ademais, é possível identificar quais patógenos estão circulando na comunidade e qual o período de maior infectividade, permitindo a identificação da sazonalidade e facilitando a tomada de decisão pelas autoridades de saúde pública, com estratégias para diminuir ou prevenir a transmissão.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The work aims to detect respiratory viruses in wastewater samples from São José do Rio Preto, identifying which respiratory pathogens are circulating and their seasonality. Wastewater-based surveillance has become an important tool for monitoring the circulation of many pathogens, as well as serving as an early warning for public health. This methodology is economical, non-invasive and can be used in real time to monitor outbreaks, as well as to detect asymptomatic cases that have not received medical attention. In addition, it is possible to identify which pathogens are circulating in the community and the period of greatest infectivity, allowing seasonality to be identified and facilitating decision-making by public health authorities, with strategies to reduce or prevent transmission.

CAMILA RODRIGUES ROSA

**ANÁLISE DA DETECÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS EM ÁGUAS RESIDUAIS
DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Data da defesa: 30/01/2026

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Vivaldo Gomes da Costa
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE)

Prof. Dr. Aripuanã Sakurada Aranha Watanabe
Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF)

Prof^a. Dr^a. Livia de Moraes Bomediano Camillo
Universidade Federal do ABC (UFABC)

Prof^a. Dr^a. Karina Alves de Toledo
Faculdade de Ciências e Letras de Assis (FCLAs)

Dra. Jéssica Maróstica de Sá
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE)

Dedico este trabalho à minha família e aos meus gatos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, minha mãe Elyzia, minhas irmãs Alexandra e Isabella, meus avós Maria e Sebastião e minha tia Elisabeth, que sempre acreditaram em mim e tornaram possível a minha jornada na universidade pública. Sem vocês eu não estaria aqui. Especialmente à minha irmã, Alexandra, pelo apoio incondicional em todas as minhas decisões e pelas conversas diárias, que foram fundamentais como suporte emocional nos momentos em que mais precisei.

À minha orientadora Paula, pelo auxílio no projeto e por ter confiado que eu poderia realizá-lo. Ao meu coorientador Vivaldo, pelo auxílio e apoio, assim como pelas conversas e risadas. A pesquisadora Marília, pelo apoio no estudo.

Aos meus gatos, Pedro, José, Chico e Charles, pela companhia constante durante os momentos de estudo. Com eles, a vida tornou-se mais leve, mais afetuosa e com mais sentido. Em períodos difíceis, foram fonte de conforto, presença silenciosa e afeto incondicional, desempenhando um papel essencial no meu equilíbrio emocional e, de muitas formas, ajudando a salvar minha vida.

Aos meus amigos de graduação, Yullia, Gervásio, Thalíssa, Heitor e Anne pelo apoio, conversas e risadas durante todos esses anos juntos. A minha amiga Carol, por tantos anos de amizade e apoio durante a graduação e o mestrado.

À minha companheira de laboratório, Paola Sinhorini, pela ajuda no projeto e por ter compartilhado essa jornada junto comigo, tornando os dias mais leves com as suas risadas. As minhas amigas de laboratórios, por todas as conversas, risadas e café das tardes!

A Mariah, pela ajuda na elaboração do trabalho e processamento das amostras.

Ao meu companheiro, pelos momentos bons e pelos momentos que mais precisei de apoio e você esteve ao meu lado.

Agradeço a equipe do SEMAE pela colaboração e entrega de amostras.

Ao IBILCE, por ter sido meu lar por todos esses anos e por proporcionar ensino gratuito de qualidade, mudando a vida de tantas pessoas que passaram por aqui, inclusive a minha.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Eu quero ser livre para viver. Eu quero ter paz com o que me trouxe até aqui. Eu quero me libertar dos fantasmas que me fizeram companhia até hoje. Quero seguir a minha própria estrada, em frente, apesar do mal que me fizeram e do mal que eu causei. Eu encaro aqui os meus traumas, encaro aqui as minhas dores, deixo aqui as minhas culpas para viver minha história. Eu quero tomar parte da minha felicidade. Eu sou inteira para o que eu posso ser. Eu mereço as alegrias que a vida me trouxer e que eu construir. E eu estou no meu caminho para tudo isso.
(PORTELA, Lorena. Primeiro eu tive que morrer. 2022).

RESUMO

As infecções respiratórias acometem os tratos respiratórios superior e inferior e figuram entre as principais causas de morbimortalidade em crianças menores de cinco anos, idosos e indivíduos imunocomprometidos. Os vírus constituem os principais agentes etiológicos dessas infecções, destacando-se o rinovírus humano (HRV), o metapneumovírus humano (HMPV), o vírus sincicial respiratório humano (HRSV), os vírus influenza A e B (InFVA e InFVB) e o SARS-CoV-2. Esses patógenos podem ser eliminados por secreções respiratórias e fezes, tornando-se detectáveis em esgotos domésticos. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar a circulação de vírus respiratórios em amostras de esgoto bruto do município de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil, utilizando a vigilância baseada em águas residuais como abordagem epidemiológica complementar. Foram analisadas 110 amostras de esgoto coletadas entre julho de 2022 e julho de 2024, submetidas à detecção por RT-qPCR e quantificação da carga viral por dPCR. Incluiu-se a triagem do vírus Pepper Mild Mottle Virus (PMMoV) como indicador de contaminação fecal e eficiência de recuperação de RNA, o qual foi detectado em 105 amostras (95,5%), indicando adequada qualidade de eficiência. No período avaliado, 54 amostras coletadas semanalmente, apresentaram resultado positivo para vírus respiratórios, com predominância de InFVA (27; 28,19%) e SARS-CoV-2 (19; 17,28%), seguidos por HRV (5; 4,55%), HRSV (2; 1,82%) e HMPV (1; 0,9%). O InFVA apresentou maior período de positividade entre maio e setembro de 2023 (17,5%), com concentrações variando de $2,64 \times 10^4$ a $2,86 \times 10^6$ cópias genômicas por litro (CG/L), enquanto o SARS-CoV-2 foi detectado predominantemente entre outubro e dezembro de 2022 (5,4%) e entre fevereiro e março de 2024 (4,5%), com concentrações entre $2,64 \times 10^4$ e $1,11 \times 10^6$ CG/L. Não foi observada inibição nas reações de RT-qPCR. Quanto ao ensaio de recuperação viral, realizado com o vírus Chikungunya, apresentou recuperação máxima de 72,7%, e os limites analíticos de detecção foram estimados em 0,35 CG por reação para SARS-CoV-2 e 62 CG por reação para InFVA. Em relação as análises estatísticas revelaram correlações significativas entre os dados obtidos e parâmetros físico-químicos do esgoto, destacando-se a associação positiva entre a temperatura do esgoto e o número de amostras positivas para SARS-CoV-2, bem como com a carga viral de InFVA. Adicionalmente, foram observadas diferenças sazonais, com maior detecção de SARS-CoV-2 no verão ($p = 0,042$) e de InFVA no outono ($p = 0,032$). Em suma, a predominância de InFVA e SARS-CoV-2 evidencia a contínua circulação sustentada desses patógenos na população, com padrões temporais distintos. De forma geral, os resultados demonstram que o monitoramento de águas residuais constitui uma ferramenta eficaz e complementar à vigilância clínica, contribuindo para a compreensão da dinâmica de circulação de vírus respiratórios, a detecção precoce de surtos e o acompanhamento dos patógenos predominantes na comunidade.

Palavras-chave: vírus respiratórios; vigilância epidemiológica; esgoto bruto, vigilância ambiental.

ABSTRACT

Respiratory infections affect the upper and lower respiratory tracts and are among the leading causes of morbidity and mortality in children under five, the elderly, and immunocompromised individuals. Viruses are the main etiological agents of these infections, notably human rhinovirus (HRV), human metapneumovirus (HMPV), human respiratory syncytial virus (HRSV), influenza A and B viruses (InFVA and InFVB), and SARS-CoV-2. These pathogens can be eliminated through respiratory secretions and feces, becoming detectable in domestic sewage. In this context, the present study aimed to investigate the circulation of respiratory viruses in raw sewage samples from the municipality of São José do Rio Preto, State of São Paulo, Brazil, using wastewater-based surveillance as a complementary epidemiological approach. A total of 110 sewage samples collected between July 2022 and July 2024 were analyzed, subjected to detection by RT-qPCR and quantification of viral load by dPCR. Screening for Pepper Mild Mottle Virus (PMMoV) was included as an indicator of fecal contamination and RNA recovery efficiency, which was detected in 105 samples (95.5%), indicating adequate efficiency quality. During the evaluation period, 54 samples collected weekly tested positive for respiratory viruses, with a predominance of InFVA (27; 28.19%) and SARS-CoV-2 (19; 17.28%), followed by HRV (5; 4.55%), HRSV (2; 1.82%), and HMPV (1; 0.9%). InFVA showed the highest positivity rate between May and September 2023 (17.5%), with concentrations ranging from 2.64×10^4 to 2.86×10^6 genomic copies per liter (GC/L), while SARS-CoV-2 was predominantly detected between October and December 2022 (5.4%) and between February and March 2024 (4.5%), with concentrations between 2.64×10^4 and 1.11×10^6 GC/L. No inhibition was observed in the RT-qPCR reactions. The viral recovery assay, performed with the Chikungunya virus, showed a maximum recovery of 72.7%, and the analytical detection limits were estimated at 0.35 CG per reaction for SARS-CoV-2 and 62 CG per reaction for InFVA. Statistical analyses revealed significant correlations between the data obtained and the physical-chemical parameters of the sewage, highlighting the positive association between sewage temperature and the number of samples positive for SARS-CoV-2, as well as with the viral load of InFVA. Additionally, seasonal differences were observed, with higher detection of SARS-CoV-2 in the summer ($p = 0.042$) and InFVA in the fall ($p = 0.032$). In summary, the predominance of InFVA and SARS-CoV-2 highlights the continued sustained circulation of these pathogens in the population, with distinct temporal patterns. Overall, the results demonstrate that wastewater monitoring is an effective tool that complements clinical surveillance, contributing to the understanding of the dynamics of respiratory virus circulation, early detection of outbreaks, and monitoring of predominant pathogens in the community.

Keywords: respiratory viruses; epidemiological surveillance; raw sewage, environmental surveillance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Morfologia das partículas de HRV por microscopia eletrônica.	19
Figura 2 – Organização do genoma do HRV.	20
Figura 3 – Esquema do capsídeo, formado pelas proteínas VP1, VP2 e VP3.	21
Figura 4 – Ciclo replicativo do HRV.	22
Figura 5 – Micrografia eletrônica do HMPV coletado do sobrenadante de cultura de células de rim de macaco <i>rhesus</i> .	24
Figura 6 – Representação esquemática do HMPV.	24
Figura 7 – Esquema do ssRNA do HMPV.	25
Figura 8 – Processo simplificado de replicação do HMPV.	26
Figura 9 – Processo de replicação do HMPV evidenciando o papel da actina.	27
Figura 10 – Esquema da partícula viral e genoma do HRSV.	30
Figura 11 – Caracterização morfológica básica das três morfologias do HRSV.	30
Figura 12 – Ciclo de replicação do HRSV.	32
Figura 13 – Micrografia eletrônica dos vírions de influenza.	35
Figura 14 – Esquema do genoma do vírus InFVA.	36
Figura 15 – Replicação do vírus influenza.	37
Figura 16 – Partícula viral do SARS-CoV-2.	40
Figura 17 – Genoma do SARS-CoV-2.	40
Figura 18 – Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.	42
Figura 19 - Correlação instantânea e cruzada entre a carga viral InFVA e a temperatura da água residual bruta, com cada defasagem correspondendo a uma semana.	66
Figura 20 - Correlação instantânea e cruzada entre o número de amostras positivas de SARS-CoV-2 e a temperatura bruta das águas residuais, com cada defasagem correspondendo a uma semana.	67

Figura 21 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para a carga viral do InFVA em diferentes estações.	68
Gráfico 1 - Dados de positividade viral obtido no ensaio de RT-qPCR das amostras de esgoto bruto	54
Gráfico 2 - Número de casos positivos para vírus respiratórios por meses no ano de 2022.	55
Gráfico 3 - Número de amostras positivas em águas residuais no ano de 2022.	55
Gráfico 4 - Número de casos de vírus respiratório no ano de 2023.	56
Gráfico 5 - Número de casos positivos para SRAG por mês no ano de 2023.	57
Gráfico 6 - Número de amostras positivas em águas residuais no ano de 2023.	57
Gráfico 7 - Número de casos positivos para cada vírus em 2024.	58
Gráfico 8 - Número de casos positivos para SRAG por mês no ano de 2024.	59
Gráfico 9 - Número de amostras positivas em águas residuais no ano de 2024.	60
Gráfico 10 - Dinâmica sazonal da detecção de vírus respiratórios nas amostras de esgoto bruto e dos casos clínicos associados (2022–2024).	61
Gráfico 11 - Carga viral detectada ao longo do período analisado (2022-2024).	61
Quadro 1 – Primers e sondas usados para detecção de vírus respiratórios.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estatísticas descritivas da detecção viral, parâmetros das águas residuais e casos relatados de SARS-CoV-2 e InFVA incluídos na análise. 62

Tabela 2 - Análise de correlação de Spearman entre parâmetros de águas residuais, cargas virais e indicadores epidemiológicos para SARS-CoV-2 e InFVA. 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BVA	Bronquiolite viral aguda
CCA	<i>Chimpanzee coryza agente</i>
COVID-19	<i>Coronavirus disease</i> 2019 - doença por coronavírus 2019
CoVs	Coronavírus
Cq	Quantification cycle
DEPEC	<i>Diethyl pyrocarbonate</i>
DPCO	Doença pulmonar obstrutiva crônica
dPCR	PCR digital
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GE	<i>Gene end</i> (Fim de gene)
GS	<i>Gene start</i> (Sequência de início)
HA	Hemaglutinina
HBoV	Bocavírus Humano
HMPV	Metapneumovírus humano
HRSV	Vírus Sincicial Respiratório Humano
HRV	Rinovírus humano
IBs	Corpos de Inclusão
ICAM-1	Molécula de Adesão Intracelular-1
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
InFVA	Influenza A
InFVB	Influenza B
IRAs	Infecções Respiratórias Agudas
IRpA	Insuficiência Respiratória Aguda
ITRS	Infecção do Trato Respiratório Superior
LDLR	Lipoproteína de Baixa Adesão
MERS	Síndrome Respiratória do Oriente Médio
MHV	Vírus da hepatite murina
NA	Neuraminidase
NP	Nucleoproteína

OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
ORF	<i>Open Reading frame</i> - Quadro de Leitura Aberto
PB	Pares de bases
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PMMoV	Pepper Mild Mottle Virus
PNI	Programa Nacional de Imunizações
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa
RE	Retículo Endoplasmático
RdRp	RNA polimerase dependente de RNA
RNA	Ácido Ribonucleico
RNA _m	RNA mensageiro
RNP	Ribonucleoproteico
RT-qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase de transcrição reversa quantitativa
SARS	Síndrome respiratória aguda grave
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SeMAE	Serviço Municipal Autônomo de Água e Esgoto
sgRNA	RNAs subgenômicos
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
ssRNA	<i>single-stranded</i> - Ácido Ribonucleico de fita simples
VPg	Proteína viral ligada ao genoma
WBE	<i>Wasterwater-Based Epidemiology</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

ml	Mililitro
μl	Microlitro
H	Horas
nm	Nanômetros
g	Força G
°C	Graus Celsius
pH	Potencial Hidrogeniônico
μM	Micromolar
RPM	Rotações por minuto
m³	Metros cúbicos
Kb	<i>Kilobases</i> – quilobases
s	Segundos
GC	Genomic copies – cópias genômicas
L	Liter - Litro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	18
1.1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.1.1	Rinovírus humano	19
1.1.2	Metapneumovírus humano	23
1.1.3	Vírus sincicial respiratório humano.....	28
1.1.4	Vírus influenza	33
1.1.5	SARS-CoV-2.....	38
1.1.6	Vigilância epidemiológica baseada em águas residuais	43
2	JUSTIFICATIVA	46
3	OBJETIVOS GERAIS	47
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4	MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1	COLETA DAS AMOSTRAS DE ESGOTO	48
4.2	PROCESSAMENTO INICIAL DAS AMOSTRAS	48
4.3	EXTRAÇÃO DE RNA.....	49
4.4	DETECÇÃO DOS VÍRUS POR PCR EM TEMPO REAL	49
4.5	TESTE DE INIBIÇÃO DO QPCR.....	51
4.6	LIMITE DE DETECÇÃO QPCR (ALOD95).....	52
4.7	SÍNTESE DE CDNA E PCR DIGITAL (DPCR)	52
4.8	TESTE DE EFICIÊNCIA DE RECUPERAÇÃO	52
4.9	ANÁLISE DE DADOS	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1	DADOS DE DETECÇÃO, CONCENTRAÇÃO E VIGILÂNCIA CLÍNICA DO SARS-COV-2 E INFVA	61
5.2	ENSAIO DE EFICIÊNCIA DE RECUPERAÇÃO	63
5.3	LIMITE DE DETECÇÃO RT-QPCR (ALOD95)	63
5.4	PARÂMETROS DE ESGOTO	63
5.5	ANÁLISE DE AMOSTRAS POSITIVAS AO LONGO DAS ESTAÇÕES	68
6	CONCLUSÃO.....	75
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
	REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO GERAL

Conforme definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS), as infecções respiratórias agudas (IRAs) são enfermidades que afetam o trato respiratório humano, envolvendo tanto as vias superiores quanto as inferiores. Essas infecções resultam na obstrução do fluxo de ar, tanto nas narinas quanto nos pulmões e brônquios. As IRAs são a principal causa de mortalidade por doenças infecciosas no mundo, especialmente entre bebês, crianças, idosos e indivíduos imunocomprometidos (OMS, 2014).

As infecções provocadas por vírus respiratórios podem resultar em doenças graves, incluindo pneumonia e resfriados, que frequentemente podem levar à insuficiência respiratória aguda (IRpA), com potencial progressão para a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) (Cilloniz *et al.*, 2022). As infecções virais também podem predispor ao desenvolvimento de infecções bacterianas concomitantes ou subsequentes (Filho *et al.*, 2017).

As doenças respiratórias são altamente contagiosas devido ao seu elevado potencial de disseminação, sendo transmitidas principalmente através do espalhamento de gotículas e aerossóis, que são liberados durante espirros, tosse e fala (Filho *et al.*, 2017). Ademais, também podem ser adquiridas pelo contato com superfícies contaminadas e posterior transferência para as mucosas (Filho *et al.*, 2017).

Grande parte das infecções respiratórias, tanto das vias superiores quanto das inferiores, são causadas por vírus, destacando-se o vírus sincicial respiratório (HRSV), o rinovírus (HRV), o metapneumovírus humano (HMPV), o Influenza A (InFVA) e o Coronavírus humano (SARS-CoV-2) (Cilloniz *et al.*, 2022). Esses vírus são agentes patogênicos capazes de causar problemas de saúde graves, especialmente em crianças, idosos e indivíduos imunocomprometidos. Sua alta capacidade infecciosa, propensão a mutações, resistência ao tratamento com antivirais, tamanho reduzido e altas cargas virais em secreções respiratórias, que facilita o transporte, e alta capacidade de sobrevivência em água e superfícies tornam-nos motivo de grande preocupação (Xagorarakis, O'Brien, 2019).

A detecção de infecções respiratórias ocorre, em geral, em pacientes sintomáticos que buscam atendimento médico. Esse fato limita a identificação de vírus em indivíduos assintomáticos ou com acesso restrito aos serviços de saúde. Desta forma, o uso de amostras de águas residuais pode complementar a vigilância epidemiológica dos vírus respiratórios, uma vez que sua presença já foi detectada e relatada em estudos anteriores (Boehm *et al.*, 2023; Wolfe *et al.*, 2022).

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 Rinovírus humano

O HRV foi descoberto apenas na década de 1950 (Jacobs *et al.*, 2013). O HRV é o principal causador de resfriados e pode desencadear 50% das exacerbações de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPCO) e pode contribuir para o desenvolvimento de asma, bronquiolite grave em crianças e bebês, e pneumonia, principalmente em indivíduos imunocomprometidos e idosos (Palmenberg; Rathe; Liggett, 2010; Jacobs *et al.*, 2013).

Anteriormente, o HRV era classificado na família *Picornaviridae*, gênero *Rhinovirus* e cada sorotipo era considerado uma espécie diferente. Atualmente, de acordo com o “*International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*”, desde 2023 o HRV continua pertencente à família *Picornaviridae*, porém dentro do gênero *Enterovirus*. Atualmente, o HRV possui apenas 3 espécies, sendo elas: *Enterovirus alpharhino*, *Enterovirus betarhino* e *Enterovirus cerhino* (ICTV).

O *E. alpharhino* possui 74 sorotipos, a *E. betarhino* tem 25 sorotipos e o *E. cerhino* 57 (Palmenberg; Rathe; Liggett, 2010). Esses vírus são de ácido ribonucleico (Ribonucleic acid - RNA) de fita simples – *single-stranded* (ssRNA) de sentido positivo, com aproximadamente 7.200 nucleotídeos, não envelopados, com diâmetro aproximado de 30 nm, representado na Figura 1 (Jacobs *et al.*, 2013; Vandini *et al.*, 2019).

Figura 1 – Morfologia das partículas de HRV por microscopia eletrônica.

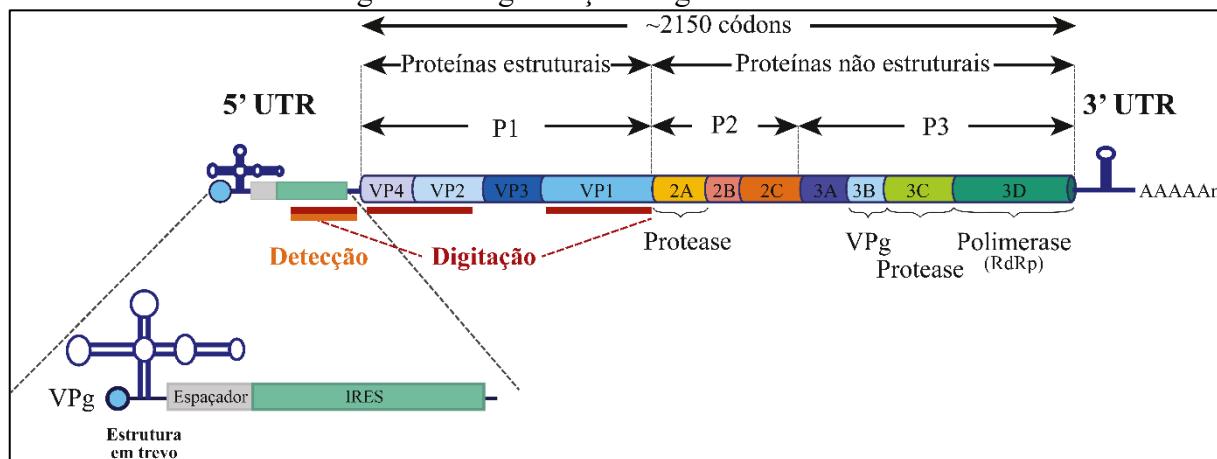


Fonte: Dreschers *et al.* (2006).

O genoma é composto por uma única região codificadora, produzindo uma poliproteína que, por sua vez, é clivada por proteases para gerar 11 proteínas (Figura 2)

(Palmenberg; Rathe; Liggett, 2010). O quadro de leitura aberto possui 6.500 nucleotídeos. Todos os sorotipos de HRVs possuem uma proteína viral pequena (VPg) ligada no terminal U5', responsável pela replicação do RNA viral (RNAv) (Palmenberg; Rathe; Liggett, 2010).

Figura 2 - Organização do genoma do HRV.

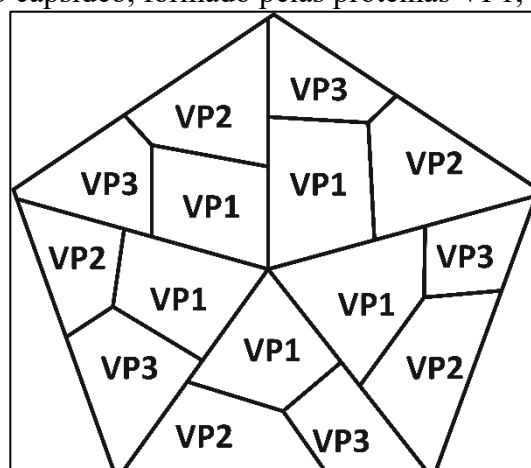


Fonte: Adaptado de Esneau; Bartlett; Bochkov, 2019.

O capsídeo é constituído por quatro proteínas estruturais, denominadas VP1, VP2, VP3 e VP4. As proteínas VP1, VP2 e VP3 encontram-se organizadas conjuntamente, formando o protômero (Figura 3), enquanto a proteína VP4 localiza-se internamente, associada à face interna do capsídeo (Vandini et al., 2019). Os protômeros organizam-se em 12 pentâmeros interligados entre si, resultando em um capsídeo composto por 60 cópias de cada uma das três proteínas externas, o que confere ao vírion uma simetria icosaédrica (Jacobs et al., 2013; Palmenberg; Rathe; Liggett, 2010).

As proteínas VP1, VP2 e VP3 são as principais responsáveis pela diversidade antigênica do HRV, enquanto a proteína VP4 desempenha papel fundamental na ancoragem do RNA genômico ao capsídeo (Jacobs et al., 2013).

Figura 3 - Esquema do capsídeo, formado pelas proteínas VP1, VP2 e VP3.



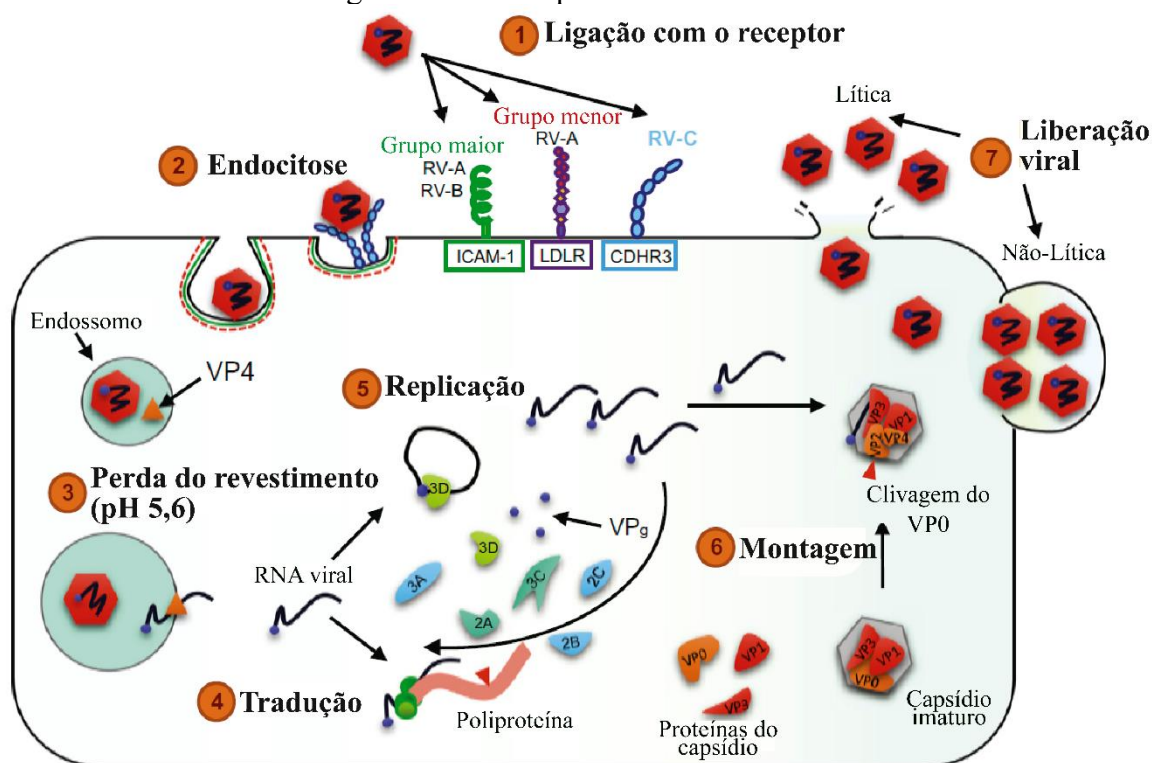
Fonte: Adaptado de Dreschers et al., 2006.

O HRV infecta predominantemente as células epiteliais da porção superior do trato respiratório, apresentando um ciclo de replicação com duração aproximada de 8 a 12 horas (Esneau; Bartlett; Bochkov, 2019). As diferentes espécies de HRV utilizam múltiplos receptores para a entrada na célula hospedeira, sendo descritos ao menos 18 receptores distintos envolvidos nesse processo (Esneau; Bartlett; Bochkov, 2019).

As espécies mais prevalentes, pertencentes ao denominado *grupo receptor principal*, que inclui a HRV-B e a maioria das HRV-A, utilizam como receptor a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1). Em contraste, o chamado *grupo receptor menor*, composto por alguns tipos de HRV-A, reconhece o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR) para a entrada celular (Esneau; Bartlett; Bochkov, 2019). De forma distinta, a espécie HRV-C utiliza como receptor o membro da família 3 relacionada à caderina (CDHR3), uma proteína altamente expressa no epitélio pulmonar e das vias aéreas (Esneau; Bartlett; Bochkov, 2019).

O ciclo de replicação do HRV compreende sete etapas principais (Figura 4). Inicialmente, ocorre a ligação da partícula viral ao receptor presente na superfície da célula hospedeira. Em seguida, o vírus é internalizado por endocitose. A remoção do capsídeo é desencadeada em ambiente ácido, com pH aproximado de 5,6, promovendo a liberação do RNA viral no citoplasma. Posteriormente, o RNA genômico é traduzido, resultando na síntese de uma poliproteína de grande extensão, concomitantemente à replicação do RNA viral. Após esses eventos, inicia-se o processo de montagem das partículas virais, culminando com a liberação dos vírions por lise celular ou por exocitose (Esneau; Bartlett; Bochkov, 2019).

Figura 4 - Ciclo replicativo do HRV.



Fonte: Adaptado de Esneau; Bartlett; Bochkov, 2019.

A transmissão do HRV ocorre por meio de secreções respiratórias contendo partículas virais, principalmente por três vias: aerossóis, formados por partículas respiratórias grandes ou pequenas; contato direto entre indivíduos, incluindo toque, beijo ou o uso de objetos intermediários; e transmissão indireta, por meio de superfícies e fômites contaminados (Jacobs et al., 2013; Andrup et al., 2022). Adicionalmente, o HRV apresenta resistência moderada a determinados desinfetantes, como o álcool em gel utilizado na higienização das mãos (Kopra et al., 2012). A inoculação viral ocorre predominantemente pelas vias nasal e conjuntival, não sendo descrita a infecção pela via oral (Jacobs et al., 2013).

Os sintomas mais frequentemente associados à infecção por HRV incluem congestão nasal, espirros, tosse e dor de garganta. Entretanto, estima-se que entre 12% e 32% das infecções em crianças menores de quatro anos sejam assintomáticas (Blaas; Fuchs, 2016; Jackson; Gern, 2022). Além disso, o HRV está associado à exacerbação de doenças pulmonares crônicas, ao desenvolvimento de asma e à ocorrência de bronquiolite grave em lactentes e crianças, podendo também causar pneumonia grave ou fatal em idosos e indivíduos imunocomprometidos (Jacobs et al., 2013; Jackson; Gern, 2022). O HRV é frequentemente relatado como o principal ou um dos agentes etiológicos mais relevantes em mais de 50% das infecções do trato respiratório superior (ITRS), além de constituir um importante desencadeador de crises asmáticas em crianças e adultos (Vandini et al., 2019).

Até o momento, não há tratamento específico disponível para a infecção por HRV, como antivirais ou vacinas licenciadas. Dessa forma, o manejo clínico baseia-se em cuidados de suporte, incluindo hidratação adequada e repouso (Bizot et al., 2021). A elevada taxa de mutação do genoma viral, que resulta em ampla diversidade antigênica, possibilita reinfecções ao longo da vida e representa um desafio significativo para o desenvolvimento de vacinas e terapias antivirais eficazes (Coultas et al., 2021).

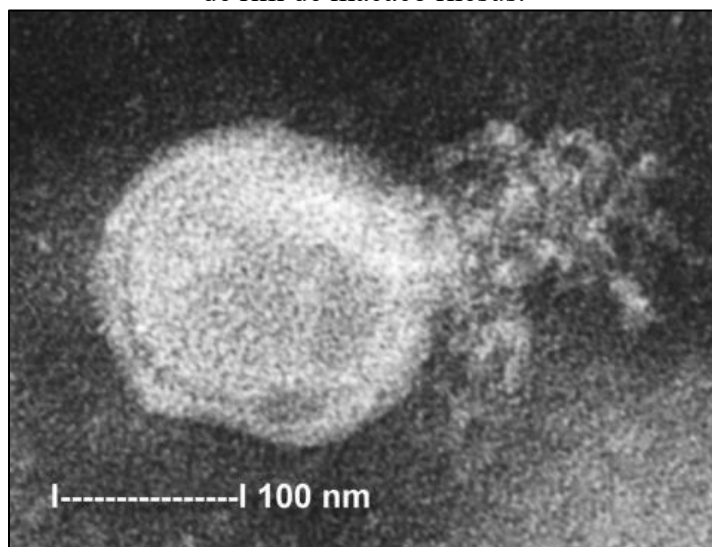
O HRV é reconhecido como um dos vírus respiratórios mais frequentemente detectados em pacientes com pneumonia, bronquiolite e outras doenças pulmonares, apresentando ampla distribuição geográfica e afetando, principalmente, a população pediátrica, especialmente lactentes (Vandini et al., 2019). Em regiões de clima temperado, os picos de incidência das infecções por HRV ocorrem, em geral, do início do outono até meados ou final da primavera. No Brasil, entretanto, a sazonalidade pode variar ao longo do ano, com registros de maior circulação viral tanto em períodos secos quanto chuvosos (Vandini et al., 2019; Lopes et al., 2020).

1.1.2 Metapneumovírus humano

O HMPV foi descrito pela primeira vez em 2004, no estudo conduzido por Van den Hoogen et al., no qual foi relatada a identificação de um novo vírus em crianças com infecções do trato respiratório na Holanda (Shafagati; Williams, 2018). Inicialmente, o HMPV foi classificado como membro do gênero *Metapneumovirus*, pertencente à subfamília *Pneumovirinae* da família *Paramyxoviridae*. No entanto, de acordo com a classificação mais recente do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), o HMPV permanece alocado no gênero *Metapneumovirus*, porém inserido na família *Pneumoviridae*, sendo reconhecido como a espécie *Metapneumovirus hominis*.

As partículas virais do HMPV apresentam morfologia pleomórfica, com variação de formato e diâmetro entre 150 e 600 nm (Figura 5) (Céspedes et al., 2016). Trata-se de um vírus envelopado, cujo nucleocapsídeo envolve um genoma constituído por uma única fita de RNA de sentido negativo (ssRNA⁻), não segmentada, com aproximadamente 13 kb de comprimento (Silva et al., 2009; Biacchesi et al., 2003; Céspedes et al., 2016).

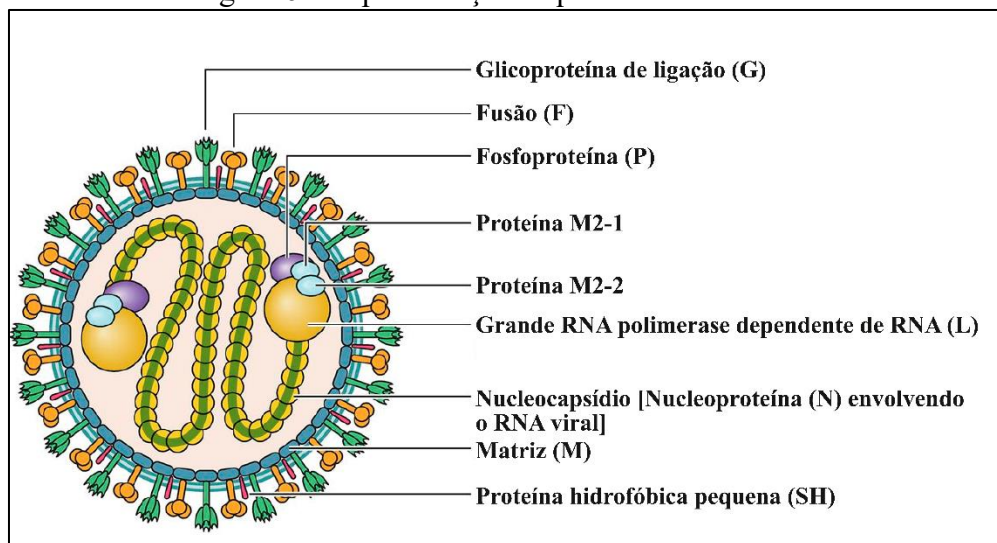
Figura 5 - Micrografia eletrônica do HMPV coletado do sobrenadante de cultura de células de rim de macaco rhesus.



Fonte: Chan *et al.*, 2003.

No que se refere ao genoma do HMPV, o RNA viral é composto por oito sequências codificadoras, cada uma delimitada por regiões conservadas de início (*gene start* – GS) e término de gene (*gene end* – GE) (Céspedes *et al.*, 2016). Cada uma dessas unidades gênicas é transcrita de forma independente durante o processo de replicação viral (Céspedes *et al.*, 2016). As oito sequências codificadoras dão origem a nove proteínas virais, a saber: nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína de matriz (M), proteína de fusão (F), glicoproteína (G), proteína hidrofóbica pequena (SH), proteínas da matriz 2 (M2-1 e M2-2) e a grande proteína polimerase (L) (Shafagati; Williams, 2018), conforme ilustrado na Figura 6.

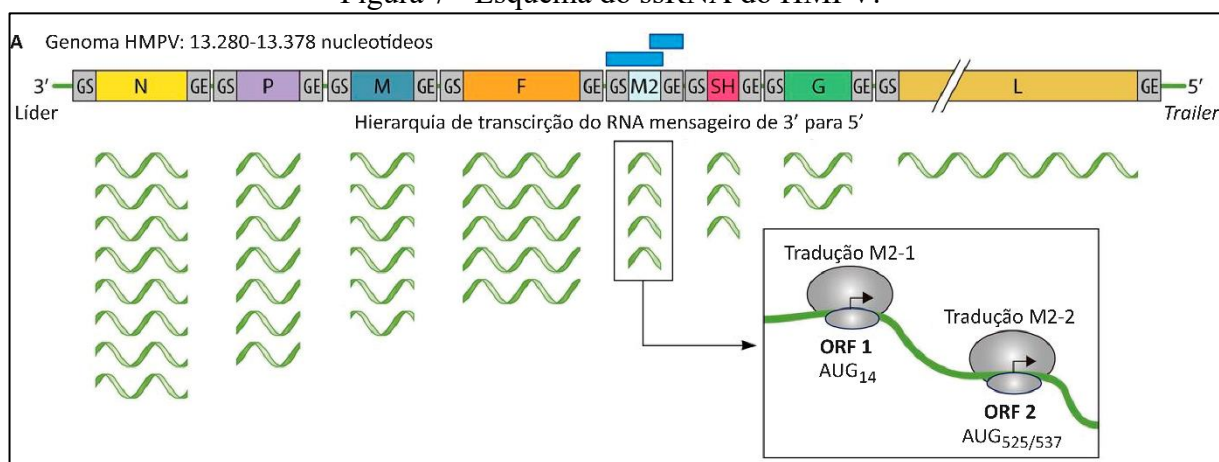
Figura 6 - Representação esquemática do HMPV.



Fonte: Adaptado de Céspedes *et al.*, 2016.

A tradução das oito sequências codificadoras, produz nove polipeptídeos diferentes por causa da existência de dois quadros de leitura abertos (ORFs): M2-1 e M2-2 (Figura 7) (Céspedes *et al.*, 2016).

Figura 7 - Esquema do ssRNA do HMPV.

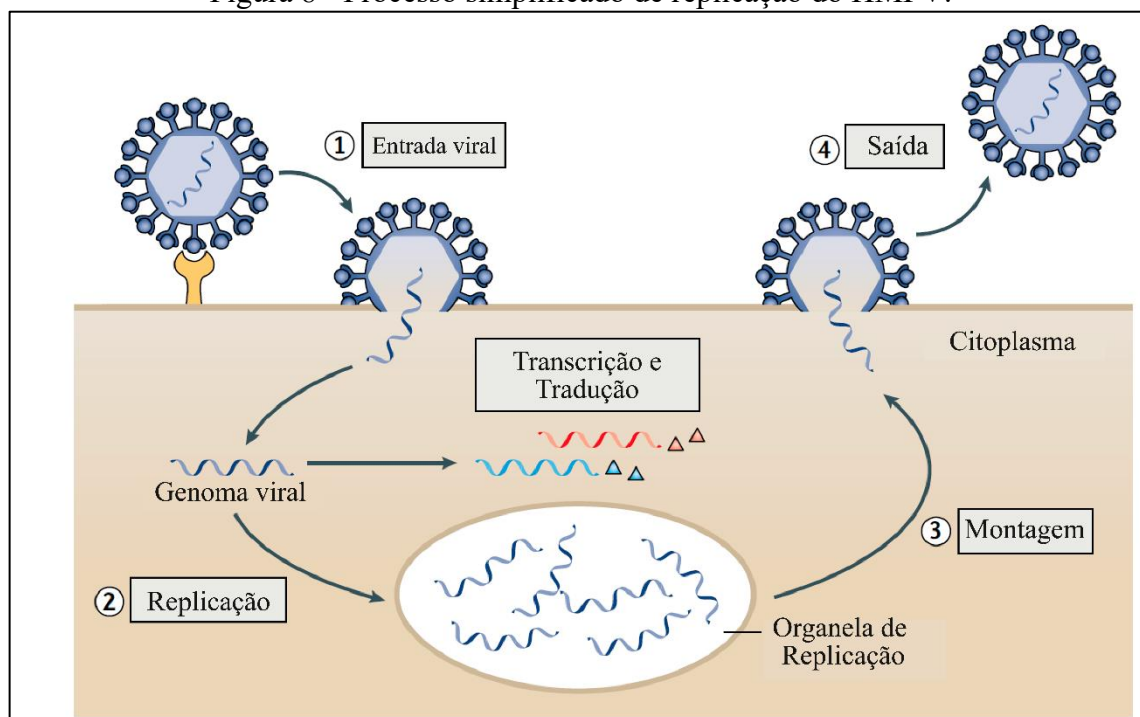


Fonte: Adaptado de Céspedes *et al.*, 2016.

A replicação do HMPV ocorre predominantemente nas células epiteliais das vias aéreas, com maior tropismo pelos tecidos nasais e pulmonares (Figura 8) (Shafagati; Williams, 2018). A infecção é iniciada pela interação das glicoproteínas de superfície do vírus, principalmente as proteínas F e G, com receptores presentes na membrana da célula hospedeira (Kinder *et al.*, 2020). Após essa interação, a proteína F sofre uma mudança conformacional que media a fusão da membrana viral com a membrana celular, resultando na liberação dos nucleocapsídeos virais no citoplasma (Kinder *et al.*, 2020).

Uma vez no citoplasma, o nucleocapsídeo viral atua como molde para a síntese dos RNAs mensageiros virais e do RNA genômico, processo catalisado pela RNA polimerase dependente de RNA (RdRp). Essas etapas ocorrem em estruturas citosólicas especializadas denominadas corpos de inclusão (*inclusion bodies* – IBs), compostas principalmente por nucleoproteína, fosfoproteínas e RNA genômico (Kinder *et al.*, 2020).

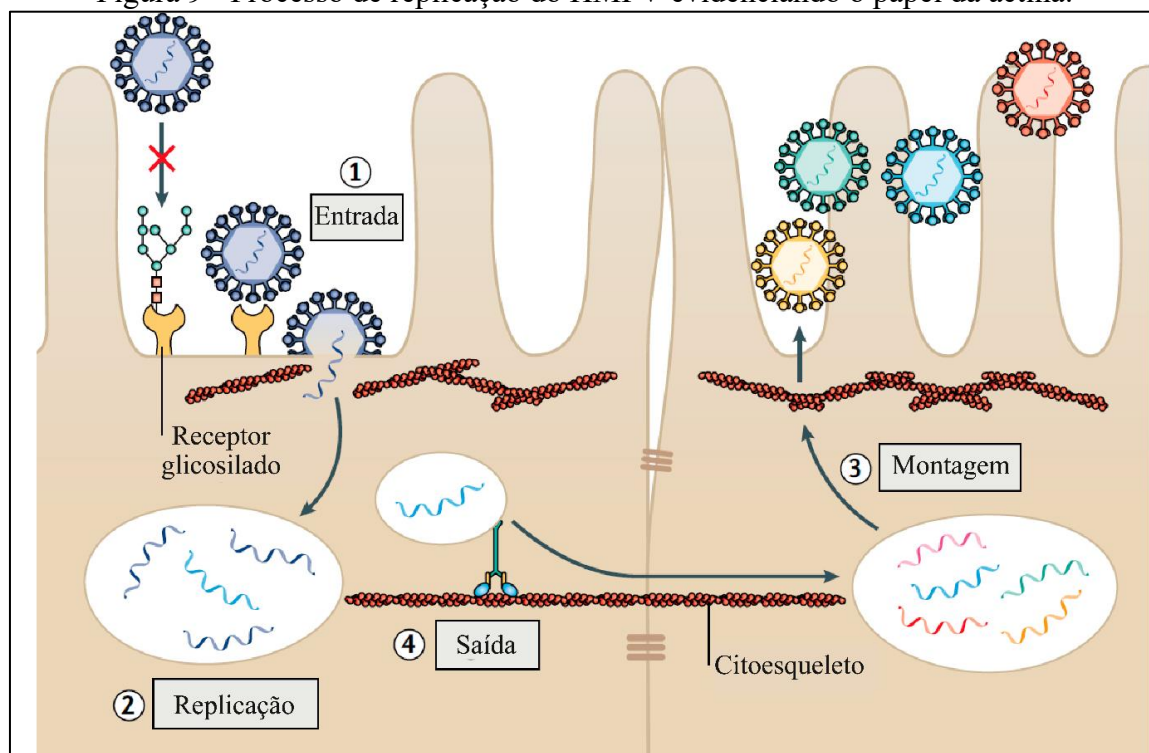
Figura 8 - Processo simplificado de replicação do HMPV.



Fonte: Adaptado de Jones; Sage; Lakdawala, 2020.

Após a associação dos nucleocapsídeos nos corpos de inclusão (IBs), ocorre o direcionamento dessas estruturas para os sítios de montagem localizados na membrana plasmática da célula hospedeira (Kinder et al., 2020). O citoesqueleto de actina desempenha papel fundamental no transporte dos ribonucleocapsídeos até esses locais de montagem, além de contribuir para a disseminação direta das partículas virais entre células adjacentes, favorecendo a propagação célula a célula do vírus (Figura 9) (Kinder et al., 2020).

Figura 9 - Processo de replicação do HMPV evidenciando o papel da actina.



Fonte: Adaptado de Jones; Sage; Lakdawala, 2020.

O HMPV acomete predominantemente crianças menores de cinco anos, especialmente lactentes, configurando-se como um importante agente etiológico de infecções do trato respiratório inferior, como pneumonia e bronquiolite (Kahn, 2006). A frequência de infecções por HMPV é significativamente maior na população pediátrica quando comparada à população adulta (Gregianini et al., 2017). Entre os principais fatores de risco associados à infecção destacam-se a idade inferior a cinco anos, a presença de comorbidades, como doença pulmonar crônica e cardiopatias, além de condições de imunossupressão (Gregianini et al., 2017).

Os sintomas mais comuns da infecção por HMPV incluem febre, tosse e hipóxia, enquanto as manifestações clínicas mais graves englobam bronquite, pneumonia e bronquiolite (Kahn, 2006; Gregianini et al., 2017). Estima-se que o HMPV seja responsável por aproximadamente 5% a 7% das infecções virais do trato respiratório em crianças hospitalizadas, além de estar associado a 6% a 40% dos casos de doença respiratória aguda em crianças atendidas em serviços ambulatoriais ou hospitalares (Shafagati; Williams, 2018; Williams et al., 2004; Van den Hoogen; Osterhaus; Fouchier, 2004).

Embora estratégias preventivas estejam voltadas ao desenvolvimento de vacinas e terapias baseadas em anticorpos monoclonais, até o momento não há vacina licenciada ou tratamento antiviral específico disponível para o HMPV (Ma et al., 2024). Dessa forma, o

manejo clínico baseia-se predominantemente em medidas de suporte, podendo incluir o uso de imunoglobulinas e glicocorticoides, como a ribavirina e a imunoglobulina intravenosa policlonal, reservadas para casos graves (Ma et al., 2024).

O HMPV apresenta distribuição mundial e é reconhecido como um importante agente causador de infecções do trato respiratório inferior (Kahn, 2006). Ao longo do ano, diferentes subgrupos geneticamente distintos do HMPV podem circular simultaneamente, com variações sazonais na predominância das linhagens virais (Shafagati; Williams, 2018). Em países de clima tropical, o HMPV apresenta um padrão de sazonalidade semelhante ao de outros vírus respiratórios, com picos de circulação em períodos mais frios e chuvosos, como o inverno e a primavera, frequentemente coincidindo com surtos de HRSV e influenza (Boivin et al., 2003; Gregianini et al., 2017).

1.1.3 Vírus sincicial respiratório humano

O HRSV foi isolado pela primeira vez em 1956, no Instituto de Pesquisa do Exército Walter Reed, nos Estados Unidos da América (EUA), a partir de amostras coletadas de uma colônia de chimpanzés que apresentavam sintomas semelhantes aos do resfriado comum, como coriza, tosse e espirros. Inicialmente, o agente foi denominado *Chimpanzee coryza agent* (CCA) (Morris; Blount; Savage, 1956; Nascimento, 2021; Battles; McLellan, 2019). Posteriormente, um vírus antigenicamente semelhante ao CCA foi isolado de crianças hospitalizadas nos EUA com doenças respiratórias, passando a ser denominado vírus sincicial respiratório, em virtude de seu tropismo pelo trato respiratório e da capacidade de induzir a formação de sincícios em culturas celulares (Chanock; Roizman; Myers, 1957; Nascimento, 2021).

Até o ano de 2015, a espécie viral era classificada como *Human respiratory syncytial virus*. No entanto, conforme a classificação mais recente do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), publicada em 2022, a espécie passou a ser denominada *Orthopneumovirus hominis*. O HRSV pertence ao gênero *Orthopneumovirus*, à família *Pneumoviridae* e à ordem *Mononegavirales*.

O HRSV é um vírus envelopado, constituído por RNA de fita simples, de sentido negativo (ssRNA⁻), não segmentado, com diâmetro médio variando entre 120 e 300 nm. Seu genoma possui aproximadamente 15,2 kb e contém dez *open reading frames* (ORFs), que codificam 11 proteínas estruturais e não estruturais (Figura 10b) (Kiss et al., 2014; Battles; McLellan, 2019). A nucleoproteína (N), a fosfoproteína (P) e a RNA polimerase dependente de

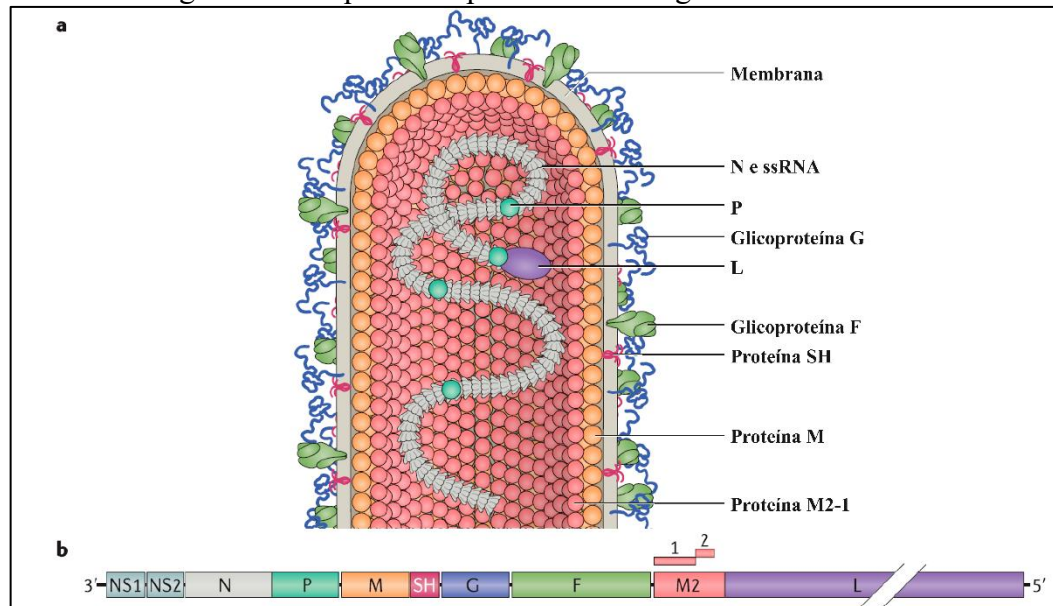
RNA (RdRp) associam-se ao RNA viral, formando uma estrutura helicoidal denominada complexo ribonucleoproteico (RNP), cuja principal função é proteger o genoma viral e atuar nos processos de transcrição e replicação do HRSV (Kiss et al., 2014).

O HRSV apresenta três proteínas integrais de membrana: a proteína de fusão (F), responsável pela fusão da membrana viral com a membrana da célula hospedeira; a glicoproteína (G), envolvida na ligação aos receptores celulares; e a proteína hidrofóbica curta (SH), que forma um canal iônico pentamérico (Kiss et al., 2014). O gene M2 possui dois ORFs sobrepostos, que codificam as proteínas M2-1 e M2-2. A proteína M2-1 atua como fator de processividade da transcrição, enquanto a proteína M2-2 regula a mudança do modo de transcrição para a replicação do genoma viral (Figura 10b) (Battles; McLellan, 2019).

As proteínas não estruturais NS1 e NS2 são as primeiras a serem transcritas e desempenham papel fundamental na evasão da resposta imune do hospedeiro, por meio da inibição da apoptose celular e das respostas mediadas por interferon (Battles; McLellan, 2019).

A partícula viral apresenta um envelope lipídico que envolve a proteína de matriz (M), as glicoproteínas de superfície F e G e a proteína SH. A proteína M2-1 também desempenha papel importante na associação entre a proteína M e os complexos ribonucleoproteicos (RNPs), formados pelo RNA viral associado à nucleoproteína (Figura 10a) (Kiss et al., 2014; Liljeroos et al., 2013). O complexo RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) é constituído pela grande proteína polimerase (L), pela fosfoproteína (P), que atua como cofator, e pela nucleoproteína (N), sendo essencial para os processos de transcrição e replicação do genoma viral (Kiss et al., 2014; Liljeroos et al., 2013).

Figura 10 - Esquema da partícula viral e genoma do HRSV.

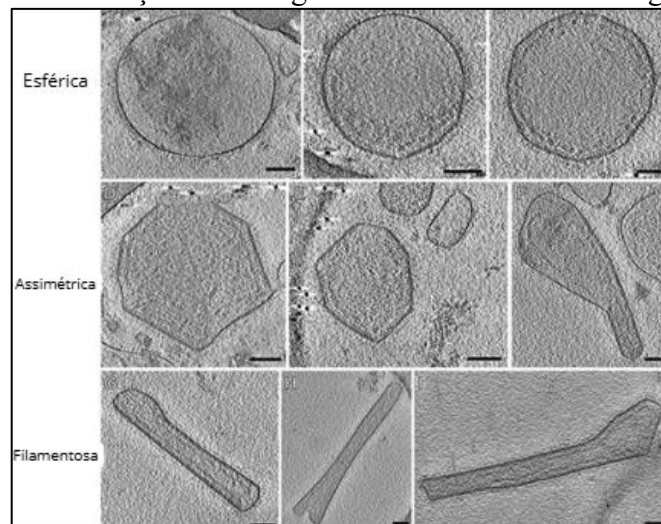


Fonte: Adaptado de Battles; McLellan, 2019.

Legenda: (a) Partícula viral do HRSV; (b) Genoma do HRSV.

As partículas de HRSV são pleomórficas, podendo ser esféricas, filamentosas ou assimétricas (Figura 11). Apesar das diferenças morfológicas que as partículas podem apresentar, todas compartilham um arranjo estrutural semelhante, como a presença das glicoproteínas de superfície, membrana e o RNP (Kiss et al., 2014).

Figura 11 - Caracterização morfológica básica das três morfologias do HRSV.



Fonte: Adaptado de Kiss et al., 2014.

Legenda: Formas esféricas (A a C), formas assimétricas (D a F) e filamentosas (G a I).

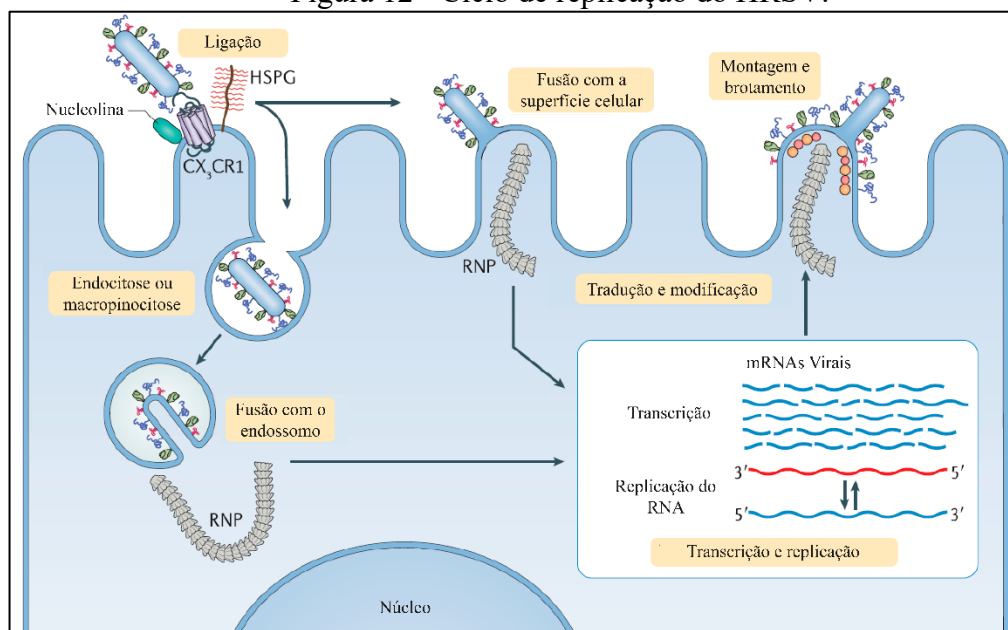
A replicação do HRSV ocorre predominantemente em células epiteliais ciliadas das vias aéreas e em pneumócitos alveolares do tipo I (Figura 12) (Battles; McLellan, 2019). A entrada do vírus na célula hospedeira é um processo que ocorre em duas etapas principais: inicialmente, a partícula viral se fixa à superfície celular por meio da glicoproteína (G) e, subsequentemente, a fusão entre a membrana viral e a membrana da célula hospedeira é mediada pela proteína de fusão (F) (Battles; McLellan, 2019).

Após a fusão das membranas, o complexo ribonucleoproteico (RNP) é liberado no citoplasma celular, onde também se iniciam os processos de transcrição e replicação do RNA viral. Essas etapas ocorrem em estruturas citoplasmáticas especializadas denominadas corpos de inclusão viral, cuja função é concentrar os componentes e produtos virais, otimizando a replicação (Battles; McLellan, 2019).

O complexo RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) é responsável pela síntese dos RNAs mensageiros virais. A montagem das novas partículas virais ocorre na membrana plasmática da célula hospedeira (Battles; McLellan, 2019). Após o processo de brotamento, os vírions recém-formados são liberados, porém ainda se encontram em estágio de maturação dependente da proteína de matriz (M), apresentando inicialmente morfologia filamentosa, com aproximadamente 130 nm de diâmetro (Battles; McLellan, 2019).

Com o decorrer do tempo, ocorre a dissociação da camada de proteína M da membrana viral, resultando na formação de partículas não filamentosas, de morfologia pleomórfica ou esférica (Battles; McLellan, 2019).

Figura 12 - Ciclo de replicação do HRSV.



Fonte: Adaptado de Battles; McLellan, 2019.

O HRSV é um dos principais agentes etiológicos de infecções respiratórias, afetando predominantemente crianças menores de cinco anos, idosos e indivíduos imunocomprometidos. O HRSV é classificado em dois subgrupos antigenicamente distintos, denominados HRSV A e HRSV B, cuja diferenciação baseia-se principalmente na variabilidade genética e antigênica. A principal divergência entre esses subgrupos está associada à glicoproteína G, responsável pela ligação do vírus aos receptores celulares e que exerce papel fundamental no processo de infecção viral (Martinelli et al., 2014).

A transmissão do HRSV ocorre principalmente pela inalação de gotículas respiratórias, tanto de maior quanto de menor tamanho, provenientes do contato direto com indivíduos infectados. Essas partículas virais penetram pelas mucosas oral, nasal e conjuntival, alcançando o trato respiratório (Kaler et al., 2023; Lourenção et al., 2005). A infecção pelo HRSV pode resultar em bronquiolite viral aguda (BVA), caracterizada por inflamação dos bronquíolos e obstrução das vias aéreas, especialmente em lactentes com menos de dois anos de idade (Fontes et al., 2023).

Os sintomas mais frequentemente observados em crianças infectadas pelo HRSV incluem tosse, febre, fadiga, expectoração, taquipneia, vômitos, gemidos respiratórios e diarreia (Fontes et al., 2023). Quando comparado a outros vírus respiratórios, como o HRV e o HMPV, o HRSV está associado a quadros clínicos mais graves e prolongados de bronquiolite viral aguda, com maior risco de hospitalização (Flores et al., 2016; Kaler et al., 2023).

No que se refere à prevenção, vacinas recentemente desenvolvidas representam um avanço significativo no controle da infecção pelo HRSV. A vacina Abrysvo® (Pfizer) é uma formulação bivalente direcionada aos subgrupos HRSV A e B, composta por antígenos recombinantes da glicoproteína F. A proteína F constitui um alvo estratégico, uma vez que medeia a fusão entre as membranas viral e celular, permitindo que anticorpos neutralizantes bloqueiem a entrada do vírus na célula hospedeira (Patel et al., 2024). Essa vacina está indicada para gestantes, idosos com 60 anos ou mais e indivíduos entre 18 e 59 anos considerados de alto risco (Governo Federal, 2025; Patel et al., 2024).

Em gestantes, a administração é recomendada entre a 32ª e a 36ª semana de gestação, com o objetivo de promover a transferência transplacentária de anticorpos maternos ao feto (Patel et al., 2024). Além disso, a vacina Arexvy® (GSK), indicada para indivíduos com 60 anos ou mais, é composta pela glicoproteína F do HRSV estabilizada na conformação pré-fusão (RSVPreF3), produzida por tecnologia de DNA recombinante (Bonneux et al., 2024).

Em relação à profilaxia e ao tratamento, dois anticorpos monoclonais estão aprovados para a prevenção da infecção pelo HRSV em lactentes: palivizumabe (Synagis®) e nirsevimabe (Beyfortus®), ambos associados a uma redução de aproximadamente 40% a 80% no risco de hospitalização (Bonneux et al., 2024). Atualmente, a ribavirina é o único antiviral aprovado para o tratamento da infecção pelo HRSV, embora seu uso seja restrito a casos selecionados. Adicionalmente, sete antivirais encontram-se em desenvolvimento clínico, incluindo análogos de nucleos(t)ídeos com ação sobre a RdRp, inibidores das proteínas L e N, e inibidores da proteína F (Bonneux et al., 2024).

O HRSV apresenta um padrão de sazonalidade bem definido, com picos de circulação viral associados a períodos de temperaturas mais baixas, particularmente durante o outono e a primavera em regiões de clima tropical (Lourenção et al., 2005). Estima-se que a infecção pelo HRSV seja responsável por aproximadamente 200 mil óbitos e cerca de 3 milhões de hospitalizações anuais em todo o mundo, configurando-se como um relevante problema de saúde pública e contribuindo significativamente para o aumento da demanda por serviços médicos e hospitalares (Jung et al., 2020; Gonçalves; Bhering, 2021).

1.1.4 Vírus influenza

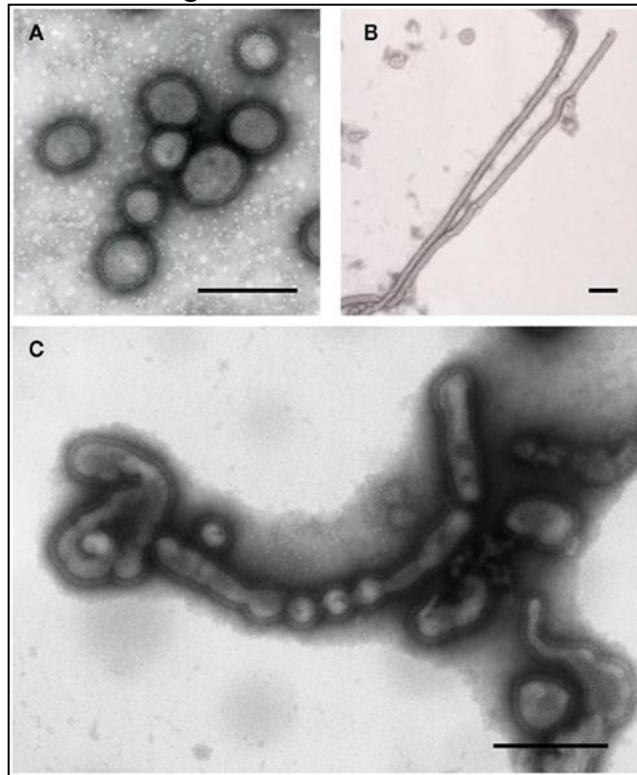
Os vírus influenza são classificados, de acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), na ordem *Articulavirales* e na família *Orthomyxoviridae*. Tratam-se de vírus envelopados, cujo genoma é constituído por RNA de fita simples, de sentido

negativo e segmentado, sendo cada segmento associado a um complexo de ribonucleoproteína viral (RNPv) (Noda, 2012; Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021). A classificação dos vírus influenza também se baseia nas diferenças antigênicas da nucleoproteína (NP) e da proteína de matriz (M1) (Noda, 2012).

Entre os vírus influenza que infectam humanos, destacam-se os tipos A, B e C. O vírus influenza tipo A é considerado o mais virulento, apresentando ampla diversidade genética e a capacidade de infectar diferentes espécies animais, como aves, bovinos e equinos. Em contraste, o vírus influenza tipo B apresenta menor variabilidade antigênica e, de modo geral, está associado a quadros clínicos menos graves quando comparado ao tipo A (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021). O InFVA (*Alphainfluenzavirus*) é classificado em 18 subtipos de hemaglutinina (HA) e 11 subtipos de neuraminidase (NA), cujas combinações resultam em diferentes subtipos e cepas virais (Noda, 2012; Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021).

O genoma do InFVA é composto por oito segmentos de RNA, os quais formam complexos de ribonucleoproteína (RNPs) em associação com a RNA polimerase dependente de RNA viral e moléculas de nucleoproteína (NP), codificando, ao todo, 12 proteínas virais (Noda, 2012). O envelope lipídico é derivado da membrana plasmática da célula hospedeira. As partículas virais apresentam, predominantemente, morfologia esférica, com diâmetro aproximado de 80 a 120 nm, podendo também assumir forma filamentosa, alcançando comprimentos de até 20 µm (Figura 13) (Noda, 2012).

Figura 13 - Micrografia eletrônica de vírions de influenza.



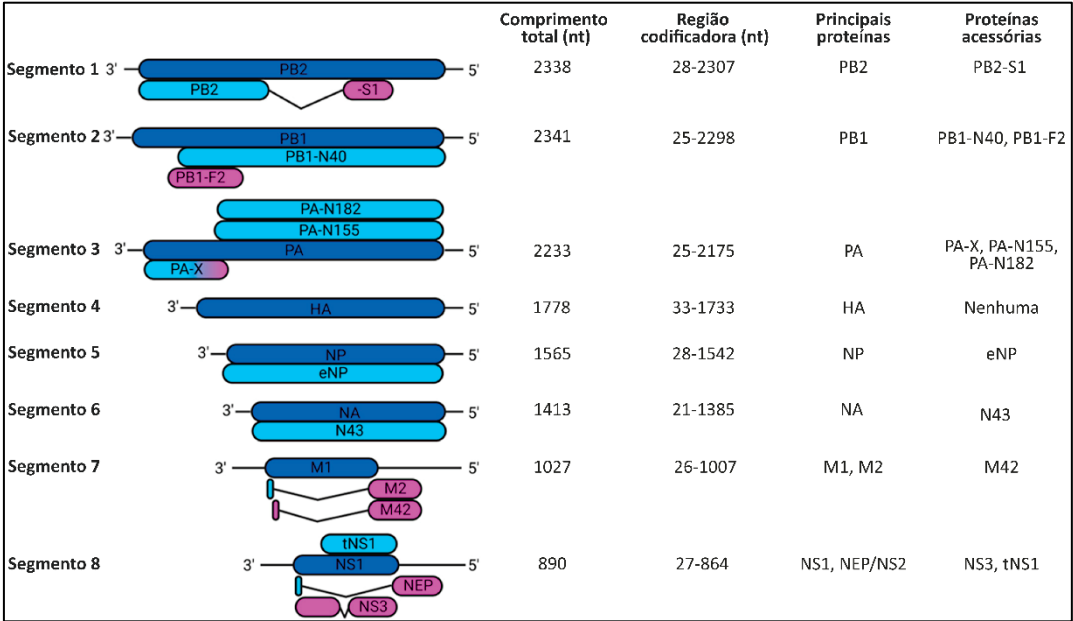
Fonte: Noda, 2012.

Legenda: (A) vírions esféricos (B) vírions filamentosos e (C) vírions de formato irregular.

O envelope viral do vírus influenza é derivado da membrana plasmática da célula hospedeira e contém três proteínas transmembranares principais: a hemaglutinina (HA), a neuraminidase (NA) e a proteína de matriz 2 (M2) (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022). A matriz viral é constituída por uma monocamada de proteína de matriz 1 (M1) oligomerizada, localizada imediatamente abaixo do envelope lipídico.

O genoma viral possui aproximadamente 13.500 nucleotídeos, organizados em oito segmentos de RNA (Figura 14) (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022). Esses segmentos codificam dez proteínas virais essenciais para o ciclo replicativo, incluindo as subunidades da RNA polimerase viral (PB2, PB1 e PA), a hemaglutinina (HA), a nucleoproteína (NP), a neuraminidase (NA), as proteínas de matriz (M1 e M2), a proteína não estrutural 1 (NS1) e a proteína de exportação nuclear (NEP) (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022).

Figura 14 - Esquema do genoma do vírus InFVA.



Fonte: Adaptado de Carter; Iqbal, 2024.

O ciclo de replicação do vírus influenza compreende dez etapas distintas (Figura 15). Inicialmente, ocorre a ligação da hemaglutinina (HA) aos receptores de ácido siálico presentes em sialiloligossacarídeos ou lipídios na superfície das células epiteliais brônquicas (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022). Subsequentemente, o vírus é internalizado por endocitose mediada por receptor. Durante o amadurecimento endossomal, a redução do pH promove uma mudança conformacional na HA, resultando na exposição do peptídeo de fusão.

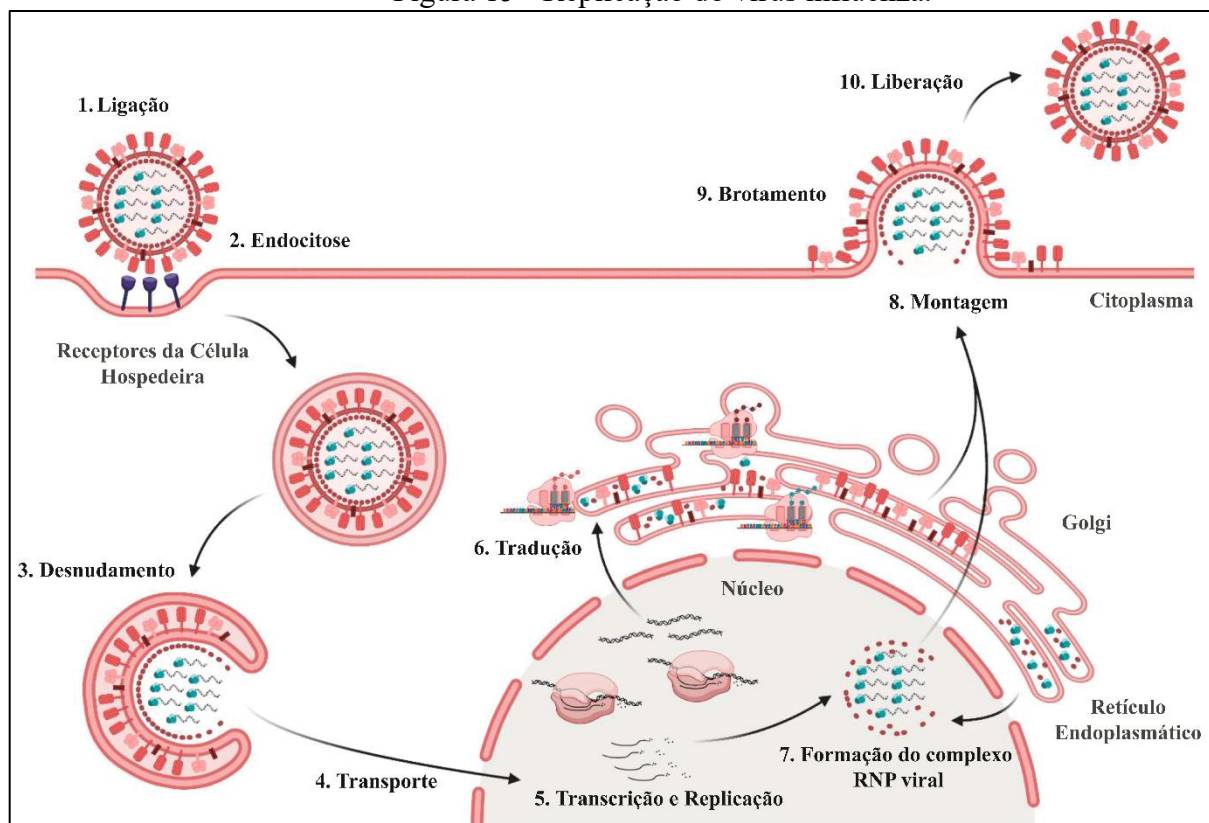
Esse peptídeo se insere na membrana do endossomo, possibilitando a fusão entre a membrana viral e a membrana endossomal e, conseqüentemente, a liberação do genoma viral no citoplasma. Em seguida, os complexos de ribonucleoproteína viral (RNPv) são transportados para o núcleo por meio da via clássica dependente de importinas (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022).

No núcleo, o RNA viral de sentido negativo é transcrito em RNA mensageiro (RNAm), que atua como molde para a síntese de novos segmentos genômicos por ação do complexo de RNA polimerase dependente de RNA viral (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022). Posteriormente, o RNAm é exportado para o citoplasma, onde ocorre a tradução proteica no retículo endoplasmático rugoso (RE).

As glicoproteínas HA e NA são então processadas no RE e no complexo de Golgi, onde sofrem modificações pós-traducionais e são oligomerizadas em trímeros e tetrâmeros, respectivamente, antes de serem transportadas para a superfície celular (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022).

As proteínas virais contendo sinais de localização nuclear retornam ao núcleo, onde participam da montagem dos novos complexos RNPv. Por fim, os segmentos de RNA de sentido negativo, associados às proteínas estruturais e não estruturais, acumulam-se na membrana plasmática da célula hospedeira, culminando na montagem e liberação das novas partículas virais por meio do processo de brotamento (Carter; Iqbal, 2024; Eichberg et al., 2022).

Figura 15 - Replicação do vírus influenza.



Fonte: Adaptado de Eichberg et al., 2022.

Os vírus são disseminados principalmente por gotículas respiratórias maiores que 5 microns, liberadas pela tosse, espirro e fala (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021), assim como as partículas menores que 5 microns podem permanecer suspensas no ar. Assim como, a transmissão também pode ocorrer por contato direto com superfícies ou objetos contaminados, já que essas partículas podem permanecer viáveis por longos períodos, como dias e semanas (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021).

Os sintomas mais comuns das infecções causadas pelo vírus da influenza incluem tosse, febre, fadiga, mal-estar, dificuldade para respirar, dor de garganta, dor de cabeça, congestão nasal, espirros e diarreia (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021). Já os sintomas mais graves podem incluir pneumonia, bronquite, infecções de ouvido, sinusite e o agravamento de condições crônicas preexistentes (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021).

O tratamento com antivirais é indicado para grupos de alto risco, como crianças menores de 5 anos e idosos de 65 anos ou mais (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021). Os antivirais aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) incluem o Oseltamivir (Tamiflu), o Baloxavir marboxil (Xoflua), zanamivir (Relenza) e Peramivir (Rapivab) (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021). Os medicamentos oseltamivir, zanamivir e peramivir atuam na inibição da replicação viral, enquanto o baloxavir marboxil é inibidor da endonuclease dependente de cap, interferindo na capacidade de multiplicação do vírus (Nypaver; Dehlinger; Carter, 2021).

A prevenção da gripe ocorre por meio da vacinação, sendo essa a principal medida preventiva contra a infecção. No Brasil a imunização dos indivíduos acima de 65 anos de idade começou em 1988 na cidade de São Paulo, após a aprovação da lei municipal 12.326/97 (Forleo-Neto et al., 2003). Em 1999, o Ministério da Saúde decidiu incluir no programa nacional de imunização a vacinação contra influenza para indivíduos com mais de 65 anos de idade, alcançando cobertura vacinal acima de 80% em todo o país (Forleo-Neto et al., 2003).

Atualmente, a vacina é indicada a partir dos seis meses de idade. A campanha de vacinação no Brasil ocorre no período de abril a agosto e faz parte do Programa Nacional de Imunizações (PNI) do Ministério da Saúde (Portal do Butantan, 2022). A vacina, produzida pelo Instituto Butantan, protege contra os três tipos de vírus influenza e é composta por diferentes cepas de *Myxovirus influenzae*, tanto inativadas quanto fragmentadas e purificadas (Portal do Butantan, 2022). Trata-se de uma vacina trivalente, combinando três cepas de vírus: uma similar ao vírus InFVA/Victoria/4897/2022 (H1N1) pdm09; uma similar ao vírus InFVA/Croatia/10136RV/2023 (H3N2); e uma similar ao InFVB/Austria/1359417/2021 (B/linhagem Victoria) (Portal do Butantan, 2022).

A alteração na composição das cepas das vacinas contra a influenza é essencial para garantir a eficácia do imunizante, uma vez que o vírus se adapta e sofre mutações (ANVISA, 2024). A Organização Mundial da Saúde (OMS) realiza análises periódicas de todos os subtipos do vírus da gripe que circulam com maior frequência, com o objetivo de aprimorar a eficácia da imunização. Assim, anualmente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) divulga a composição das vacinas contra a influenza que serão utilizadas no ano seguinte (ANVISA, 2024).

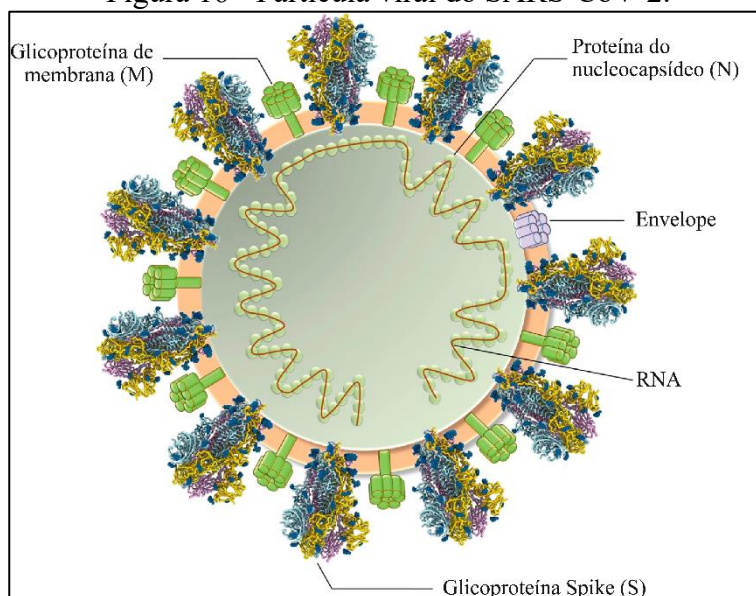
1.1.5 SARS-CoV-2

Os coronavírus (CoVs) são vírus envelopados, com genoma constituído por RNA de fita simples de sentido positivo (V'kovski et al., 2020). De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), os CoVs pertencem à família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae*, a qual é subdividida em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* e *Gammacoronavirus*.

Esses vírus têm sido responsáveis por surtos de grande relevância em saúde pública, incluindo a síndrome respiratória aguda grave (SARS) entre 2002 e 2003, a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) em 2012 e, mais recentemente, o surto iniciado em 2019 causado pelo novo coronavírus, denominado *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2), pertencente ao gênero *Betacoronavirus* (Foladori et al., 2020).

O SARS-CoV-2 é um vírus envelopado, com genoma de RNA de fita simples de sentido positivo, apresentando, em geral, morfologia esférica com diâmetro variando entre 60 e 140 nm, embora também possa assumir formas pleomórficas e ovais (Grudlewska-Buda et al., 2021). O envelope viral é composto por três proteínas estruturais principais: a glicoproteína Spike (S), responsável pelo aspecto de coroa característico do vírus; a proteína de membrana (M); e a proteína de envelope (E). A proteína S desempenha papel central na interação com a célula hospedeira, mediando a ligação aos receptores celulares e o processo de endocitose (Grudlewska-Buda et al., 2021).

Figura 16 - Partícula viral do SARS-CoV-2.

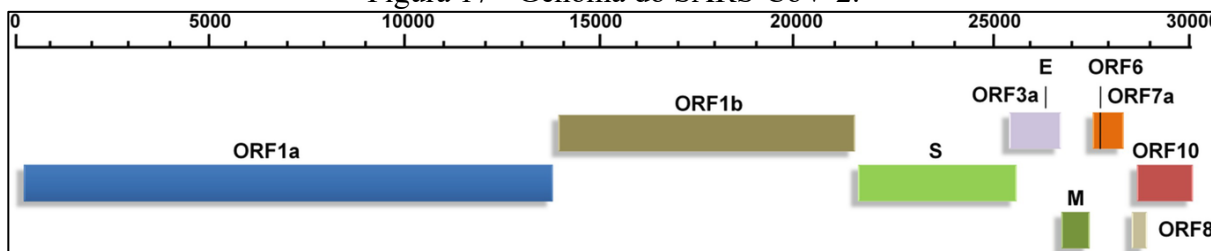


Fonte: Adaptado de Kumar et al., 2020.

O genoma tem de 26-32kb, com 6-11 ORFs, que codificam 9680 poliproteínas (Kumar et al., 2020). Os primeiros ORFs (ORF1a e ORF1b) codificam 16 proteínas não estruturais (nsps), e os ORFs restantes codificam proteínas estruturais e acessórias (Kumar et al., 2020).

As proteínas não estruturais incluem duas proteases de cisteína viral, RNA polimerase dependente de RNA, helicase e outras proteínas (Kumar et al., 2020). Adicionalmente, o vírus possui quatro proteínas estruturais principais: a glicoproteína de superfície spike (S), a proteína de membrana (M), o nucleocapsídeo (N) e a proteína de envelope (E), além de proteínas acessórias, sendo as proteínas M e E fundamentais para os processos de morfogênese, montagem e brotamento do SARS-CoV (Kumar et al., 2020).

Figura 17 - Genoma do SARS-CoV-2.



Fonte: Kumar et al., 2020.

Os CoVs infectam principalmente células do trato respiratório, incluindo células epiteliais brônquicas e pneumócitos (V'kovski et al., 2020). A replicação viral inicia-se com a entrada do vírus na célula hospedeira, um processo dependente da interação entre a proteína Spike (S) e o receptor celular enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2). Após essa ligação,

a proteína S é clivada por proteases celulares, como a serino-protease transmembrana 2 (TMPRSS2), promovendo alterações conformacionais que resultam na fusão do envelope viral com a membrana da célula hospedeira (Kumar et al., 2020; Malone et al., 2021). Durante a internalização, ocorre o desencapsidamento do RNA viral no citoplasma, local onde se desenvolvem as etapas subsequentes do ciclo replicativo (Kumar et al., 2020; Malone et al., 2021).

Inicialmente, os ribossomos da célula hospedeira são recrutados para a tradução do genoma viral, cujo RNA de sentido positivo atua diretamente como RNA mensageiro (RNAm). Nesse processo, são traduzidos os dois principais quadros de leitura aberta, ORF1a e ORF1b, originando as poliproteínas replicases pp1a e pp1ab (Malone et al., 2021). Essas poliproteínas são posteriormente clivadas pelas proteases virais não estruturais nsp3 e nsp5, resultando na formação de 16 proteínas não estruturais.

A pp1a origina a nsp11, enquanto a pp1ab é processada em nsp1 a nsp10, bem como nsp12 a nsp16 (Malone et al., 2021). A nsp1 atua na inibição da tradução do RNAm da célula hospedeira, enquanto as demais proteínas não estruturais se organizam em complexos de replicação e transcrição (RTCs), responsáveis pela síntese do RNA viral (Malone et al., 2021).

A síntese de RNA tem início com a produção do anti-genoma e de um conjunto de RNAs subgenômicos (sgRNAs) de sentido negativo, derivados do RNA genômico por meio da ação dos RTCs. A proteína nsp12 contém o domínio da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), responsável por catalisar a síntese de RNA em associação com os cofatores nsp7 e nsp8, formando a holoenzima RdRp (Malone et al., 2021).

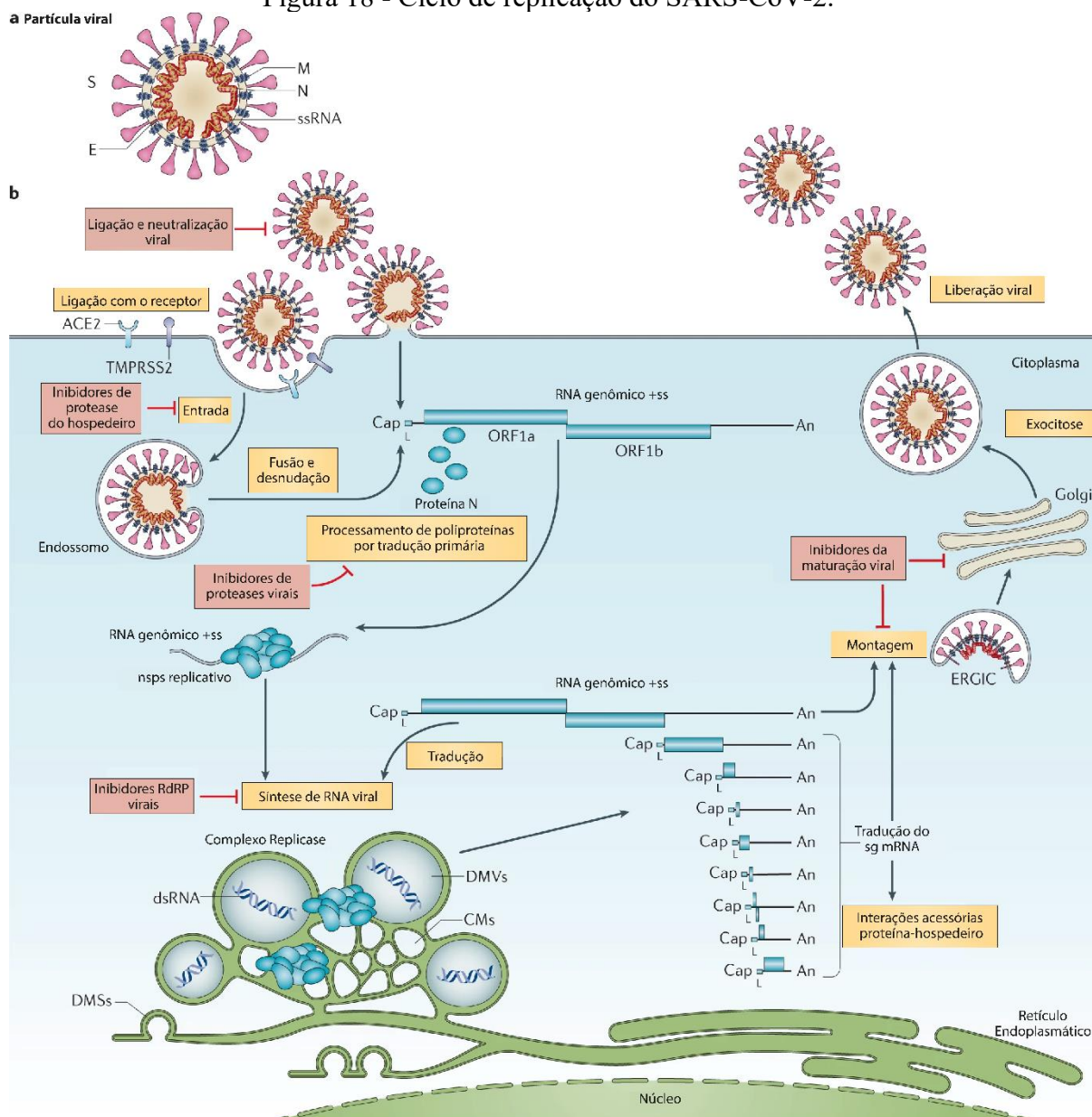
O anti-genoma serve como molde para a produção de novos RNAs genômicos, enquanto os sgRNAs direcionam a síntese de RNAs mensageiros subgenômicos (sg-mRNAs), essenciais para a expressão das proteínas estruturais envolvidas na montagem e liberação dos vírions (Malone et al., 2021).

A síntese do RNA viral ocorre no interior de vesículas delimitadas por dupla membrana, formadas a partir de rearranjos das membranas celulares (Malone et al., 2021). Após a tradução do RNA genômico e a maturação das poliproteínas, estabelece-se o complexo de síntese de RNA e expressão gênica, dependente da interação entre o RNA viral e proteínas não estruturais e de membrana da célula hospedeira (V'kovski et al., 2020).

A replicação viral requer intermediários de RNA de sentido negativo para a produção de RNAs de sentido positivo, que podem ser empacotados no vírion ou utilizados como molde para a síntese de sg-mRNAs (Malone et al., 2021; V'kovski et al., 2020).

Por fim, as proteínas estruturais participam da montagem dos novos vírions, que ocorre no retículo endoplasmático e no compartimento intermediário entre o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi. Os vírions formados são então transportados para o complexo de Golgi e liberados da célula hospedeira por meio do processo de exocitose (V'kovski et al., 2020).

Figura 18 - Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.



Fonte: Adaptado de V'kovski et al., 2020.

Legenda: (a) partícula viral do SARS-CoV-2; (b) Ciclo de replicação viral.

A transmissão ocorre principalmente por gotículas respiratórias, que apresentam alta carga viral no início da doença (Yesudhas et al., 2020; Hu et al., 2020). No entanto, também

pode ocorrer de forma indireta por objetos contaminados, como roupas e maçanetas, pois o vírus pode permanecer nessas superfícies por alguns dias (Yesudhas et al., 2020; Hu et al., 2020). A transmissão também pode ocorrer por aerossóis, formados por partículas menores que podem permanecer no ar por um longo período e podem infectar outros indivíduos (Yesudhas et al., 2020; Hu et al., 2020).

A maioria dos pacientes infectados por *coronavirus disease 2019* (COVID-19) apresentam sintomas em um período de 1 a 14 dias, sendo estes leves ou moderados. Estes incluem falta de ar, fadiga, dor de garganta, tosse, espirro, congestão nasal, diarreia, vômito, dores nas articulações e musculares (Aiyegbusi et al., 2021; Yesudhas et al., 2020; Hu et al., 2020).

Sintomas neurológicos também podem estar presentes, já que as células gliais e os neurônios possuem receptores ACE2, sendo suscetíveis a entrada do vírus, causando distúrbios gustativos e olfativos, além de cefaleia, confusão, tontura, insônia, confusão mental, desorientação e convulsões (Aiyegbusi et al., 2021; Harapan; Yoo, 2021).

Atualmente, sete vacinas contra a COVID-19 estão aprovadas pela ANVISA no Brasil: Comirnaty (*Pfizer*/Wyeth), Comirnaty bivalente BA.4/BA.5 (*Pfizer*), Janssen Vaccine (*Janssen-Cilag*), vacina COVID-19 recombinante da Fiocruz, *Spikevax* bivalente (*Moderna*), *Spikevax* (*Moderna*) e vacina COVID-19 recombinante da Zalika (ANVISA, 2024). A Comirnaty, a Janssen e a *Spikevax* utilizam a tecnologia de RNA mensageiro (RNAm). Por outro lado, a vacina COVID-19 recombinante da Fiocruz é produzida com o Adenovírus tipo 26, que codifica a proteína *spike* do SARS-CoV-2 (Ad26.COV2-S). Já a vacina COVID-19 recombinante da Zalika combina a proteína S (*spike*) recombinante com um adjuvante (ANVISA, 2024).

O antiviral Paxlovid (PF-07321332) é uma combinação do nirmatrelvir que inibe a protease 3C dos SARS-CoV-2, dificultando o crescimento do vírus e ritonavir, que auxilia o nirmatrelvir, esse medicamento é indicado para idosos acima de 65 anos (Hillary; Ceasar, 2023). O Paxlovid foi aprovado pela ANVISA em 2022. Além desse, outro antiviral que está aprovados pela ANVISA no Brasil, é o Veklury® (remdesivir), produzido pela Gilead Sciences Farmacêutica do Brasil Ltda., que pode inibir a síntese do RNA viral ou resultar na formação prematura do RNA durante a replicação (ANVISA, 2024).

1.1.6 Vigilância epidemiológica baseada em águas residuais

O uso de águas residuais para fins de vigilância epidemiológica teve início em 1939, quando foi aplicado ao monitoramento do poliovírus. Entretanto, foram necessários mais de 60 anos para que a Organização Mundial da Saúde (OMS) incorporasse oficialmente a epidemiologia baseada em águas residuais (*Wastewater-Based Epidemiology*, WBE) como estratégia para a detecção e vigilância do poliovírus (Singer et al., 2023). Posteriormente, a partir de 2009, as águas residuais passaram a ser monitoradas também para vírus respiratórios, incluindo o vírus InFVA (Ahmed et al., 2022).

A WBE ganhou reconhecimento como um método eficaz para fornecer alertas precoces sobre a propagação de doenças infecciosas, aumentando durante a pandemia de COVID-19 em 2020 (Laicans et al., 2024). Outros vírus respiratórios, como o vírus sincicial respiratório, já foram detectados em fezes de pacientes.

No estudo de caso de Akbari et al., 2017 eles detectaram RNA do HRSV nas fezes de uma criança. Neste estudo três amostras de fezes foram coletadas, a criança apresentava gastroenterite aguda e estas amostras foram testadas para vírus respiratórios e bactérias gastrointestinais usando um painel multiplex-PCR completo, foi detectado o HRSV (subtipo B) em todas as três amostras de fezes e nenhuma coinfeção com outros agentes enteropatogênicos (Akbari et al., 2017).

No estudo de Hughes et al., 2022, a equipe detectou o RNA do HRSV em amostras de sólidos sedimentados em águas residuais da Califórnia e comparou com dados da vigilância clínica do Estado, os resultados indicaram que a concentração de HRSV em sólidos sedimentados está associada com as taxas de positividade clínica para HRSV em laboratórios sentinelas em todo o estado em 2021 (Hughes et al., 2022).

Demais vírus respiratórios também foram detectados em águas residuais em um estudo onde foi medida a concentração do RNA de vírus respiratórios mais comuns, como o HRSV A e B, InFVA e InFVB, HMPV, parainfluenza humana, coronavírus humanos e HRV, sendo que o RNA de todos os vírus foi detectado nas amostras analisadas (Boehm et al., 2023).

No estudo de Ahmed et al., 2022, os vírus respiratórios foram detectados por qPCR e RT-qPCR, incluindo bocavírus; vírus parainfluenza 1, 2 e 3; parechovírus; HRSV A e B; HRV A e B; Vírus Epstein-Barr; citomegalovírus e vírus InFVA, em diferentes estações de tratamentos de esgoto. O único vírus que não foi detectado foi a InFVB (Ahmed et al., 2022).

A abordagem de WBE fundamenta-se no princípio de que a concentração de substâncias de origem química ou biológica que alcançam o sistema de esgotamento sanitário pode ser detectada e quantificada (Prado et al., 2023). Essa metodologia é capaz de fornecer informações relevantes sobre a saúde da população, sendo amplamente utilizada para a detecção

de compostos químicos, como drogas ilícitas, álcool, tabaco e fármacos, bem como de indicadores biológicos, incluindo vírus, bactérias, fungos e outros microrganismos.

As águas residuais constituem amostras representativas da comunidade local, uma vez que contêm produtos das excreções humanas, como fezes, urina, escarro, muco e saliva (Boehm et al., 2023; Waseem et al., 2023). Dessa forma, a WBE possibilita a avaliação do estado de saúde coletivo da população atendida pelo sistema de esgotamento, independentemente da busca por atendimento médico ou da realização de testes laboratoriais individuais (Chan; Boehm, 2025).

A WBE consolidou-se, portanto, como uma ferramenta complementar de grande relevância aos sistemas tradicionais de vigilância de doenças. Essa abordagem tem sido amplamente reconhecida como uma ferramenta de alerta para saúde pública, estimando aumentos ou reduções na transmissão de patógenos em uma comunidade, antecipando surtos e monitorando variações temporais. Adicionalmente, essa abordagem possibilita a detecção da reintrodução de patógenos previamente controlados, a identificação do surgimento de novos agentes infecciosos, o reconhecimento de comunidades em situação de risco e o monitoramento da resistência antimicrobiana (Prado et al., 2023).

6 CONCLUSÃO

Mais estudos são necessários para aprofundar a compreensão da relação entre as concentrações de RNA de vírus respiratórios detectadas em esgotos e a incidência de casos clinicamente confirmados. No entanto, a vigilância epidemiológica baseada em águas residuais configura-se como uma ferramenta complementar relevante à vigilância clínica, uma vez que possibilita a detecção de infecções assintomáticas e de indivíduos que não buscaram atendimento em serviços de saúde. Ademais, essa abordagem apresenta potencial para antecipar picos de infecção, subsidiar a tomada de decisão e a implementação de medidas de intervenção pelos sistemas de saúde, bem como contribuir para o entendimento dos patógenos em circulação na população e de seus padrões de sazonalidade.

Nesse contexto, destaca-se como achado relevante do presente estudo a detecção de RNA de HRV em uma amostra de esgoto em um período no qual não houve notificação de casos pela vigilância clínica. Esse resultado reforça a sensibilidade da epidemiologia baseada em águas residuais para identificar a circulação viral silenciosa na comunidade, evidenciando seu potencial como sistema de alerta precoce e como complemento estratégico à vigilância tradicional. A epidemiologia baseada em águas residuais também pode ser empregada na geração de dados epidemiológicos em regiões onde o acesso a testes clínicos é limitado, especialmente em países de baixa e média renda.

REFERÊNCIAS

- AHMED, Warish *et al.* Occurrence of multiple respiratory viruses in wastewater in Queensland, Australia: Potential for community disease surveillance. **Science of the Total Environment**, Austrália, v. 864, p. 1-9, 18 dez. 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161023>.
- AIYEGBUSI, Olalekan Lee *et al.* Symptoms, complications and management of long COVID: a review. **Journal of the Royal Society of Medicine**, Reino Unido, v. 114, n. 9, p. 428–442, 29 jun. 2021. DOI <https://doi.org/10.1177/01410768211032850>.
- AKBARI, A *et al.* Identification of Respiratory Syncytial Virus (RSV) Genome in the Stool of a Child with Acute Gastroenteritis. **Iranian Journal of Virology**, Iran, v. 11, p. 39-41, 1 jan. 2017. Disponível em: <https://journal.isv.org.ir/article-1-328-en.pdf>.
- ANDO, Hiroki *et al.* Impact of the COVID-19 pandemic on the prevalence of influenza A and respiratory syncytial viruses elucidated by wastewater-based epidemiology. **Science of the Total Environment**, Japão, v. 880, p. 1-8, 1 jul. 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162694>.
- ANDRUP, Lars *et al.* Transmission route of rhinovirus - the causative agent for common cold. A systematic review. **American Journal of Infection Control**, Denmark, v. 51, p. 938 - 957, 16 dez. 2022. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2022.12.005>.
- ANVISA. **Definida composição das vacinas contra influenza para 2025: Padrões definidos seguem as orientações da Organização Mundial da Saúde**. Brasil, 17 out. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2024/definida-composicao-das-vacinas-contrainfluenza-para-2025>.
- ANVISA. **Medicamentos aprovados para tratamento da Covid-19**. Brasil, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/campanhas/coronavirus/medicamentos>.
- BIACCHESSI, Stéphane *et al.* Genetic diversity between human metapneumovirus subgroups. **Virology**, Bethesda, v. 315, p. 1-9, 10 out. 2003. DOI 10.1016/S0042-6822(03)00528-2.
- BIZOT, Etienne *et al.* Rhinovirus: A Narrative Review on Its Genetic Characteristics, Pediatric Clinical Presentations, and Pathogenesis. **Pediatric Infectious Diseases**, França, v. 9, p. 1-8, 21 mar. 2021. DOI <https://doi.org/10.3389/fped.2021.643219>.
- BLAAS, Dieter; FUCHS, Renate. Mechanism of human rhinovirus infections. **Molecular and Cellular Pediatrics**, Austria, v. 3, p. 1-4, 1 jun. 2016. DOI <https://doi.org/10.1186/s40348-016-0049-3>.
- BATTLES, Michael B.; MCLELLAN, Jason S. Respiratory syncytial virus entry and how to block it. **Nat Rev Microbiol**, USA, v. 17, p. 233-245, 5 fev. 2019. DOI <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0149-x>.
- BOEHM, Alexandria B. *et al.* Wastewater concentrations of human influenza, metapneumovirus, parainfluenza, respiratory syncytial virus, rhinovirus, and seasonal

coronavirus nucleic-acids during the COVID-19 pandemic: a surveillance study. **The Lancet Microbe**, USA, v. 4, p. 340-348, 3 maio 2023. DOI 10.1016/S2666-5247(22)00386-X.

BOIVIN, Guy *et al.* Human Metapneumovirus Infections in Hospitalized Children. **Emerging Infectious Diseases**, Canadá, v. 9, n. 6, p. 634-640, 1 jun. 2003. DOI 10.3201/eid0906.030017.

BONNEUX, Brecht *et al.* Direct-acting antivirals for RSV treatment, a review. **Antiviral Research**, Bélgica, v. 229, p. 1-12, 5 jul. 2024. DOI <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2024.105948>.

CARTER, Toby; IQBAL, Munir. The Influenza A Virus Replication Cycle: A Comprehensive Review. **Viruses**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 1-53, 19 fev. 2024. DOI <https://doi.org/10.3390/v16020316>.

CILLONIZ, Catia *et al.* Respiratory viruses: their importance and lessons learned from COVID-19. **Eur Respir Rev**, Espanha, v. 31, p. 1-18, 30 maio 2022. DOI 10.1183/16000617.0051-2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9724808/>.

CÉSPEDES, PF *et al.* Modulation of Host Immunity by the Human Metapneumovirus. **Clinical Microbiology Reviews**, Chile, v. 29, p. 795 - 818, 13 jun. 2016. DOI <https://doi.org/10.1128/cmr.00081-15>.

CHAN, Elana MG; BOEHM, Alexandria B. Respiratory Virus Season Surveillance in the United States Using Wastewater Metrics, 2023–2024. **ACS ES&T Água**, Califórnia, v. 5, n. 2, p. 985-992, 22 jan. 2025. DOI <https://doi.org/10.1021/acsestwater.4c01013?urlappend=%3Fref%3DPDF&jav=VoR&rel=cite-as>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsestwater.4c01013>.

CHAN, Paul KS *et al.* Human Metapneumovirus Detection in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. **Emerging Infectious Diseases**, China, v. 9, n. 9, p. 1058-1063, set. 2003. DOI <https://doi.org/10.3201/eid0909.030304>.

CHANOCK, R; ROIZMAN, B; MYERS, R. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). I. Isolation, properties and characterization. **Am J Hyg**, [S. l.], v. 66, p. 281-290, nov. 1957. DOI 10.1093/oxfordjournals.aje.a119901.

COULTAS, James A *et al.* Experimental Antiviral Therapeutic Studies for Human Rhinovirus Infections. **Journal of Experimental Pharmacology**, Reino Unido, v. 13, p. 645-659, 9 jul. 2021. DOI <https://doi.org/10.2147/JEP.S255211>.

DJOULISSA, Louis-Jean *et al.* Abundance and possibilities of crAssphage and PMMoV as a viral indicator in raw sewage in wastewater treatment plants. **Science of The Total Environment**, EUA, v. 963, p. 1-6, 1 fev. 2025. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.178101>.

DRESCHERS, S *et al.* The cold case: Are rhinoviruses perfectly adapted pathogens? **Cellular and Molecular Life Sciences**, Alemanha, v. 64, p. 181-191, 27 nov. 2006. DOI <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6266-5>.

EICHBERG, Johanna *et al.* Antiviral Potential of Natural Resources against Influenza Virus Infections. **Viruses**, Alemanha, v. 14, n. 11, p. 1-26, 5 nov. 2022. DOI <https://doi.org/10.3390/v14112452>.

ESNEAU, Camille; BARTLETT, Nathan; BOCHKOV, Yury A. Rhinovirus structure, replication, and classification. In: RHINOVIRUS Infection: Rethinking the Impact on Human Health and Disease. 1. ed. Australia: [s. n.], 2019. v. 1, cap. Capítulo 1, p. 1-23. ISBN 978-0128164174. Disponível em: 10.1016/b978-0-12-816417-4.00001-9.

FILHO, Edivá Basílio da Silva *et al.* Infecções Respiratórias de Importância Clínica: uma Revisão Sistemática. **Revista FIMCA**, Rondônia, v. 4, n. 1, p. 7-16, 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/33445>.

FLORES, Juan Carlos *et al.* Potential neurocognitive consequences of infection by human respiratory syncytial virus. **Rev Chilena Infectol.**, Chile, p. 537-542, out. 2016. DOI 10.4067/S0716-10182016000500008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28112337/>.

FOLADORI, Paola *et al.* SARS-CoV-2 from faeces to wastewater treatment: What do we know? A review. **Science of the Total Environment**, Itália, v. 743, p. 1-12, 24 jun. 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140444>.

FONTES, Valéria *et al.* High Incidence of Respiratory Syncytial Virus in Children with Community-Acquired Pneumonia from a City in the Brazilian Pre-Amazon Region. **Viruses**, Brasil, v. 15, n. 6, p. 1-10, 31 maio 2023. DOI <https://doi.org/10.3390/v15061306>.

FORLEO-NETO, Eduardo *et al.* Influenza. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 267-274, mar. 2003. DOI <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000200011>.

GIRARDI, Viviane *et al.* Assessment of diversity of adenovirus DNA polymerase gene in recreational waters facilitated by ultracentrifugal concentration. **J Water Health**, Rio Grande do Sul, v. 16, p. 102-111, 1 fev. 2018. DOI <https://doi.org/10.2166/wh.2017.144>

GOITOM, Eyerusalem *et al.* Identification of environmental and methodological factors driving variability of Pepper Mild Mottle Virus (PMMoV) across three wastewater treatment plants in the City of Toronto. **Science of The Total Environment**, Canadá, v. 932, p. 1-11, 1 jul. 2024. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172917>.

GONCALVES, Joelma Rodrigues Souza; BHERING, Carlos Alberto. Vírus Sincicial Respiratório (VSR): Avanços Diagnósticos. **Revista De Saúde**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 55-63, 2021. DOI <https://doi.org/10.21727/rs.v12i1.2399>. Disponível em: <http://editora.universidadedevasouras.edu.br/index.php/RS/article/view/2399>.

GOVERNO FEDERAL. **Ministério da Saúde. Informe SE 2 de 2024 | Vigilância das Síndromes Gripais Influenza, covid-19 e outros vírus respiratórios de importância em saúde pública**. Brasil, 19 jan. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt->

br/assuntos/coronavirus/atualizacao-de-casos/informe-se-2-de-2024-vigilancia-das-sindromes-gripais-influenza-covid-19-e-outros-virus-respiratorios-de-importancia-em-saude-publica/view.

GOVERNO FEDERAL. ANVISA. Abrysvo® (vacina do vírus sincicial respiratório A e B recombinante): **ampliação de uso**. Brasil, 20 jan. 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/novos-medicamentos-e-indicacoes/abrysvo-r-vacina-do-virus-sincicial-respiratorio-a-e-b-recombinante-ampliacao-de-uso>.

GREGIANINI, Tatiana Schäffer *et al.* Human metapneumovirus in Southern Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, 0-Brasil, v. 51, p. 30-38, 22 dez. 2017. DOI <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0435-2017>.

GRUDLEWSKA-BUDA, Katarzyna *et al.* SARS-CoV-2—Morphology, Transmission and Diagnosis during Pandemic, Review with Element of Meta-Analysis. **J. Clin. Med**, Poland, v. 10, p. 1-33, 3 maio 2021. DOI <https://doi.org/10.3390/jcm10091962>.

HAMZA, Hazem *et al.* Pepper mild mottle virus in wastewater in Egypt: a potential indicator of wastewater pollution and the efficiency of the treatment process. **Archives of Virology**, Egito, v. 164, p. 2707–2713, 27 ago. 2019. DOI <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04383-x>.

HARAPAN, Biyan Nathanael; YOO, Hyeon Joo. Neurological symptoms, manifestations, and complications associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19). **Journal of Neurology**, Alemanha, v. 268, p. 3059–3071, 23 jan. 2021. DOI <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10406-y>.

HILLARY, Varghese Edwin; CEASAR, Stanislaus Antony. An update on COVID-19: SARS-CoV-2 variants, antiviral drugs, and vaccines. **Heliyon**, Índia, v. 9, p. 1-25, 23 fev. 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13952>.

HOOGEN, Bernadette G. van Den; OSTERHAUS, D. M. E.; FOUCHIER, Ron A. M. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. **Pediatric Infectious Disease Journal**, USA, v. 23, n. 1, p. 25-32, jan. 2004. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/01.inf.0000108190.09824.e8>.

HU, Ben *et al.* Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. **Nat Rev Microbiol.**, China, v. 19, p. 141-154, 6 out. 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>.

HUGHES, Bridgette *et al.* Respiratory Syncytial Virus (RSV) RNA in Wastewater Settled Solids Reflects RSV Clinical Positivity Rates. **Environmental Science & Technology Letters**, California, v. 9, p. 173-178, 12 jan. 2022. DOI 10.1021/acs.estlett.1c00963.

JACOBS, Samantha E *et al.* Human Rhinoviruses. **Clinical Microbiology Review**, New York, USA, v. 26, p. 135-162, 1 jan. 2013. DOI <https://doi.org/10.1128/CMR.00077-12>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3553670/#B4>.

JACKSON, David J.; GERN, James E. Rhinovirus Infections and Their Roles in Asthma: Etiology and Exacerbations. **J Allergy Clin Immunol Pract**, UK, p. 673–681, mar. 2022. DOI [doi:10.1016/j.jaip.2022.01.006](https://doi.org/10.1016/j.jaip.2022.01.006).

JONES, Jennifer E.; SAGE, Valerie Le; LAKDAWALA, Seema S. Viral and host heterogeneity and their effects on the viral life cycle. **Nature Reviews Microbiology**, USA, v. 19, p. 272-282, 6 out. 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00449-9>.

JUNG, Jiwon *et al.* Clinical significance of viral–bacterial codetection among young children with respiratory tract infections. **Medicine**, [S.L.], v. 99, n. 2, p. 1-8, jan. 2020. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/md.00000000000018504>.

KAHN, Jeffrey S. Epidemiology of Human Metapneumovirus. **Clinical Microbiology Reviews**, Connecticut, v. 19, n. 3, p. 546 - 557, 5 jul. 2006. DOI <https://doi.org/10.1128/cmr.00014-06>.

KALER, Jasndeeep *et al.* Respiratory Syncytial Virus: a comprehensive review of transmission, pathophysiology, and manifestation. **Cureus**, [S.L.], v. 15, p. 1-17, 18 mar. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.36342>.

KINDER, J. Tyler *et al.* Respiratory Syncytial Virus and Human Metapneumovirus Infections in Three-Dimensional Human Airway Tissues Expose an Interesting Dichotomy in Viral Replication, Spread, and Inhibition by Neutralizing Antibodies. **Journal of Virology**, USA, v. 94, p. 1-20, 29 set. 2020. DOI <https://doi.org/10.1128/jvi.01068-20>.

KISS, Gabriella *et al.* Structural Analysis of Respiratory Syncytial Virus Reveals the Position of M2-1 between the Matrix Protein and the Ribonucleoprotein Complex. **Journal of Virology**, USA, v. 88, p. 7602–7617, 23 abr. 2014. DOI <https://doi.org/10.1128/JVI.00256-14>.

KOPRA, Carita Savolainen *et al.* Single treatment with ethanol hand rub is ineffective against human rhinovirus—hand washing with soap and water removes the virus efficiently. **Journal of Medical Virology**, Finland, v. 84, p. 543-547, 13 jan. 2012. DOI <https://doi.org/10.1002/jmv.23222>.

KUMAR, Swatantra *et al.* Morphology, Genome Organization, Replication, and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). In: **CORONAVIRUS Disease 2019 (COVID-19)**. Singapore: [s. n.], 2020. p. 23-31. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-15-4814-7_3.

LAICANS, Juris *et al.* Precision and Accuracy Limits of Wastewater-Based Epidemiology—Lessons Learned from SARS-CoV-2: A Scoping Review. **Water**, Riga, v. 16, p. 1-22, 25 abr. 2024. DOI <https://doi.org/10.3390/w16091220>.

LILJEROOS, Lassi *et al.* Architecture of respiratory syncytial virus revealed by electron cryotomography. **The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**, Finland, ano 27, v. 110, p. 11133–11138, 17 jun. 2013. DOI <https://doi.org/10.1073/pnas.1309070110>.

LOPES, Giseldo Pinheiro *et al.* Identification and seasonality of rhinovirus and respiratory syncytial virus in asthmatic children in tropical climate. **Biosci Rep**, Brasil, v. 40, p. 1-10, 24 set. 2020. DOI <https://doi.org/10.1042/BSR20200634>.

LOURENÇÃO, Luciano Garcia *et al.* Infecções pelo Vírus Sincicial Respiratório em crianças. **Pulmão RJ**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 59-68, 1 mar. 2005. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-410514>.

MA, Shiyang *et al.* Development of a novel multi-epitope mRNA vaccine candidate to combat HMPV virus. **Hum Vaccin Immunother**, China, v. 19, n. 3, p. 1-16, 3 jan. 2024. DOI <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2293300>.

MALONE, Brandon *et al.* Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, USA, v. 23, p. 21-39, 25 nov. 2021. DOI <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00432-z>.

MARTINELLI, Marianna *et al.* Phylogeny and population dynamics of respiratory syncytial virus (Rsv) A and B. **Virus Research**, [S. l.], v. 189, p. 293-302, 30 ago. 2014. DOI <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.06.006>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168170214002494?casa_token=6CggKAdHiw8AAAAA:9cJXB0dai79pTYsiA7NdWyVW_PtPJS9E3TTm60aqtvlKsdiWC_bV_uR-W_rjheILV-EZl6hPAR9X#sec0005.

MORRIS, JA; BLOUNT, RE; SAVAGE, RE. Recovery of Cytopathogenic Agent from Chimpanzees with Goryza. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, Washington, v. 92, p. 544-549, 1956. DOI <https://doi.org/10.3181/00379727-92-22538>.

NASCIMENTO, Fernanda de Oliveira. **CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DO VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO HUMANO NO AMAZONAS EM 2019**. 2021. 124 p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Interação Patógeno-Hospedeiro) - Instituto Leônidas e Maria Deane, Manaus, 2021. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/49926>.

NYPAYER, Cynthia; DEHLINGER, Cynthia; CARTER, Chelsea. Influenza and Influenza Vaccine: A Review. **J Midwifery Womens Health**, Ohio, v. 66, p. 45-53, 1 fev. 2021. DOI <https://orcid.org/0000-0003-1201-3311>.

NODA, Takeshi. Native morphology of influenza virions. **Front. Microbiol.**, Tóquio, v. 2, p. 1-5, 2 jan. 2012. DOI <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00269>.

OMS (WHO). **Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory infections in health care**. [S. l.], 2014. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112656/1/9789241507134_eng.pdf?ua=1.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Até 650 mil pessoas morrem por doenças respiratórias ligadas à gripe sazonal a cada ano**. Brasil, 12 dez. 2017. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/12-12-2017-ate-650-mil-pessoas-morrem-por-doencas-respiratorias-ligadas-gripe-sazonal-cada>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Atualização epidemiológica: SARS-CoV-2 e outros vírus respiratórios na Região das Américas - 8 de janeiro de 2024**. Brasil, 8 jan. 2024. Disponível em:

<https://www.paho.org/pt/documentos/atualizacao-epidemiologico-sars-cov-2-e-outros-virus-respiratorios-na-regiao-das>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Atualização epidemiológica: circulação do SARS-CoV-2 e de outros vírus respiratórios nas Américas**. Brasil, 10 jan. 2024. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/10-1-2024-atualizacao-epidemiologica-circulacao-do-sars-cov-2-e-outros-virus-respiratorios>.

PALMENBERG, Ann C.; RATHE, Jennifer A.; LIGGETT, Stephen B. Analysis of the complete genome sequences of human rhinovirus. **The journal of allergy and clinical immunology**, v. 125, n. 6, p. 1190-1199, jun. 2010. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.04.010>.

PATEL, Dhanvi *et al.* Use of the Abrysvo Vaccine in Pregnancy to Prevent Respiratory Syncytial Virus in Infants: A Review. **Cureus**, USA, v. 16, p. 1-6, 31 ago. 2024. DOI <https://doi.org/10.7759/cureus.68349>.

PORTAL DO BUTANTAN. **Vacina Influenza Trivalente: A vacina contra a gripe que protege a população brasileira**. São Paulo, 2022. Disponível em: <https://butantan.gov.br/influenza#perigos-influenza>.

PRADO, Tatiana *et al.* Wastewater-based epidemiology for preventing outbreaks and epidemics in Latin America – Lessons from the past and a look to the future. **Science of The Total Environment, Brazil**, v. 865, p. 1-14, 20 mar. 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161210>.

PREFEITURA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO/SP. **Vigilância em Saúde - Vigilância Epidemiológica**. São José do Rio Preto, 31 out. 2024. Disponível em: http://www.saude.riopreto.sp.gov.br/transparencia/boletim_influenza_saude_riopreto.php.

RAYA, Sunayana *et al.* Quantification of multiple respiratory viruses in wastewater in the Kathmandu Valley, Nepal: Potential implications of wastewater-based epidemiology for community disease surveillance in developing countries. **Science of The Total Environment, Japão**, v. 920, p. 1-10, 8 fev. 2024. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170845>.

ROSARIO, Karyna *et al.* Pepper Mild Mottle Virus as an Indicator of Fecal Pollution. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, [S. l.], v. 75, n. 22, p. 7261–7267, 31 ago. 2009. DOI 10.1128/AEM.00410-09. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.00410-09>.

SEMAE (São José do Rio Preto). **TRATAMENTO DE ESGOTO – ETE**. São José do Rio Preto. Disponível em: <https://SeMAE.riopreto.sp.gov.br/tratamento-de-esgoto-ete/>.

SHAFAGATI, Nazly; WILLIAMS, John. Human metapneumovirus - what we know now. **F1000Research 2018**, Pittsburgh, p. 1-11, 1 fev. 2018. DOI <https://doi.org/10.12688/f1000research.12625.1>.

SILVA, Luciana Helena Antoniassi da *et al.* VÍRUS RESPIRATÓRIO SINCICIAL HUMANO E METAPNEUMOVÍRUS HUMANO. **Rev HCPA**, Brasil, v. 29, n. 2, p. 139-146, 24 ago. 2009. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/8065>.

SIMS, Natalie; KASPRZYK-HORDERN, Barbara. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. **Environment International**, UK, v. 139, p. 1-13, 4 abr. 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>.

SINGER, Andrew C. *et al.* A world of wastewater-based epidemiology. **Nature Water**, [S. l.], v. 1, p. 408–415, 22 maio 2023. DOI <https://doi.org/10.1038/s44221-023-00083-8>.
VAN DEN HOOGEN, Bernadette G. *et al.* Antigenic and Genetic Variability of Human Metapneumoviruses. **Emerging Infectious Diseases**, Netherlands, v. 10, n. 4, p. 658-666, abr. 2004. DOI <https://doi.org/10.3201/eid1004.030393>.

STALEY, Christopher *et al.* Performance of Two Quantitative PCR Methods for Microbial Source Tracking of Human Sewage and Implications for Microbial Risk Assessment in Recreational Waters. **Appl Environ Microbiol**, USA, ano 20, v. 78, p. 7317–7326, 10 ago. 2012. DOI <https://doi.org/10.1128/AEM.01430-12>.

VANDINI, Silvia *et al.* Impact of Rhinovirus Infections in Children. **Viruses**, Italy, v. 11, p. 1-13, 5 jun. 2019. DOI <https://doi.org/10.3390/v11060521>.

Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Lefkowitz EJ, Dempsey DM, Hendrickson RC, Orton RJ, Siddell SG, Smith DB. *Nucleic Acids Res.* 2017 Oct 13. PubMed PMID: 29040670.

V'KOVSKI, Philip *et al.* Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, Suíça, v. 19, p. 155-170, 28 out. 2020. DOI <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>.

WASEEM, Hassan *et al.* Wastewater-Based Epidemiology of SARS-CoV-2 and Other Respiratory Viruses: Bibliometric Tracking of the Last Decade and Emerging Research Directions. **Water**, Toronto, v. 15, p. 1-19, 30 set. 2023. DOI <https://doi.org/10.3390/w15193460>.

WILLIAMS, John V. *et al.* Human Metapneumovirus and Lower Respiratory Tract Disease in Otherwise Healthy Infants and Children. **N Engl J Med**, Nashville, v. 350, n. 5, p. 443-450, 29 jan. 2004. DOI DOI: 10.1056/NEJMoa025472.

WOLFE, Marlene K. *et al.* Wastewater-Based Detection of Two Influenza Outbreaks. **Environ. Sci. Technol.**, [S. l.], v. 9, p. 687–692, 5 jul. 2022. DOI <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.2c00350>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.estlett.2c00350>.

WU, Fuqing *et al.* SARS-CoV-2 Titers in Wastewater Are Higher than Expected from Clinically Confirmed Cases. **American Society for Microbiology**, Massachusetts, USA, v. 5, n. 4, p. 1-9, 21 jul. 2020. DOI <https://doi.org/10.1128/msystems.00614-20>.

XAGORARAKI, Irene; O'BRIEN, Evan. Wastewater-Based Epidemiology for Early Detection of Viral Outbreaks. In: **WOMEN in Water Quality**. USA: [s. n.], 30/06/2019. p. 75-97. ISBN 978-3-030-17819-2. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-17819-2_5

YESUDHAS, Dhanusha *et al.* COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. **Infection**, Indian, v. 49, p. 199-213, 4 set. 2020. DOI <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01516-2>.

ZAFEIRIADOU, Anastasia *et al.* Wastewater surveillance of the most common circulating respiratory viruses in Athens: The impact of COVID-19 on their seasonality. **Science of The Total Environment**, Grécia, v. 900, p. 1-8, 20 nov. 2023. DOI <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166136>.

ZHANG, Tao *et al.* RNA Viral Community in Human Feces: Prevalence of Plant Pathogenic Viruses. **PLOS BIOLOGY**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 108/118, 20 dez. 2005. DOI <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040003>.