

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA**

**Roberta de Matos Caetano**

**Ampliação das Ações de Vigilância Laboratorial e Epidemiológica no  
Diagnóstico das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar como  
Estratégias Integradas de Prevenção à Saúde**

Juiz de Fora  
2024

Roberta de Matos Caetano

**Ampliação das Ações de Vigilância Laboratorial e Epidemiológica no  
Diagnóstico das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar como  
Estratégias Integradas de Prevenção à Saúde**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde Coletiva.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Roberto Silva

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Souza Dias

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Caetano, Roberta de Matos .

Ampliação das ações de vigilância laboratorial e epidemiológica no diagnóstico das doenças de transmissão hídrica e alimentar como estratégias integradas de prevenção à saúde / Roberta de Matos Caetano. -- 2024.

78 f. : il.

Orientador: Márcio Roberto Silva

Coorientador: Ricardo Souza Dias

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, 2024.

1. Doenças de transmissão hídrica e alimentar. 2. Vírus entéricos. 3. Maxakali. 4. Água. 5. Detecção viral. I. Silva, Márcio Roberto , orient. II. Dias, Ricardo Souza , coorient. III. Título.

**Roberta de Matos Caetano**

**Ampliação das Ações de Vigilância Laboratorial e Epidemiológica no Diagnóstico das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar como Estratégias Integradas de Prevenção à Saúde**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde Coletiva. Área de concentração: Saúde Coletiva.

Aprovada em 29 de fevereiro de 2024.

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Márcio Roberto Silva - Orientador**  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Prof. Dr. Ricardo Souza Dias**  
Fundação Ezequiel Dias

**Prof.<sup>a</sup> Dra. Elisângela Flávia Pimentel**  
Universidade Vila Velha

**Prof.<sup>a</sup> Dra. Sílvia Lanzotti Azevedo da Silva**  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Prof.ª Dra. Ana Paula Carlos Cândido Mendes**  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Prof.ª Dra. Carina Cantelli Pacheco de Oliveira**  
Instituto Oswaldo Cruz

Juiz de Fora, 07/02/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Marcio Roberto Silva, Usuário Externo**, em 01/03/2024, às 09:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **SILVIA LANZIOTTI AZEVEDO DA SILVA, Professor(a)**, em 01/03/2024, às 10:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **ricardo souza Dias, Usuário Externo**, em 01/03/2024, às 13:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elisangela Flavia Pimentel, Usuário Externo**, em 04/03/2024, às 16:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Uffj ([www2.uff.br/SEI](http://www2.uff.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1698411** e o código CRC **A3AB9F3D**.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por conceder-me a oportunidade de realizar este sonho e por guiar meus passos ao longo desta jornada.

Ao meu esposo, Fabrício, pelo constante incentivo, paciência nos momentos difíceis, superação de desafios e apoio incondicional.

Ao meu amigo, professor, coorientador e colega de trabalho, Dr. Ricardo Souza Dias, por acreditar em meu potencial, pelo estímulo constante e pela dedicação nos estudos.

Aos dedicados colegas da FUNED, pelos valiosos ensinamentos, trocas de experiências, apoio mútuo, envolvimento e parceria na busca de conhecimento para enfrentar novos desafios em prol da Saúde Pública.

Ao Coordenador da Divisão de Vigilância Sanitária e Ambiental, Kleber Baptista, pela confiança depositada e pelo apoio indispensável.

Às parcerias externas, cuja colaboração foi fundamental para a conclusão desta dissertação e teve impacto significativo nas ações de prevenção de saúde em Minas Gerais.

Ao meu respeitado professor e orientador, Dr. Roberto Marcio Silva, pelos valiosos ensinamentos, paciência e pela confiança depositada em meu trabalho.

## RESUMO

As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) fazem parte do cenário global de doenças com grande impacto na saúde e na economia. No Brasil, os Laboratórios Centrais de Saúde Pública participam da investigação dos surtos de DTHA e outros agravos. Nos surtos de DTHA ocorridos em Minas Gerais entre 2012 e 2022, em 376 envolvendo alimentos, apenas 45,2% tiveram seus agentes causais identificados e em 73 envolvendo o consumo de água 36%. O baixo percentual de identificação possivelmente foi devido às lacunas identificadas nesse estudo (preenchimento incompleto das fichas de inquérito para o direcionamento das análises e metodologias para a pesquisa de novos patógenos) que comprometeram identificação dos agentes causais. Diante desse cenário, o objetivo deste trabalho foi fortalecer as ações de vigilância laboratorial e epidemiológica, introduzindo um novo parâmetro analítico: a pesquisa de agentes virais por biologia molecular (RT-PCR). Dos 15 surtos envolvendo alimentos ocorridos no estado entre janeiro e julho de 2023, três foram direcionados para a pesquisa de agentes virais destes, dois foram identificados rotavírus. No monitoramento da qualidade da água *in natura* consumida pela comunidade indígena Maxakali, localizada no Vale do Mucuri, MG, entre março e agosto de 2023 os agentes virais não foram detectados, mas foi observada a presença de coliformes totais e *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* ssp. *enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila* nos pontos de consumo. Embora a pesquisa de agentes virais tenha sido adotada na avaliação da qualidade da água de consumo das comunidades indígenas Maxakali devido aos constantes surtos de DDA, os mesmos não foram isolados, mas o monitoramento realizado revelou que todas as aldeias apresentaram elevado risco de ocorrência de surtos, por não atenderem ao padrão de potabilidade (presença de *E. coli*), e pela presença de enteropatógenos. As medidas de intervenção adotadas foram capazes de mitigar o risco, contribuindo com a melhoria da qualidade de vida dessa população vulnerável. A introdução da pesquisa de agentes virais para ampliação do diagnóstico laboratorial de água e alimentos envolvidos em surtos de DTHA foi uma estratégia promissora para a elucidação de casos não conclusivos.

**Palavras-chave:** Doenças de transmissão hídrica e alimentar. Vírus entéricos. Maxakali. Água. Alimento. Detecção viral.

## ABSTRACT

Waterborne and foodborne diseases (DTHA) are part of the global scenario of diseases with a major impact on health and the economy. In Brazil, the Central Public Health Laboratories participate in the investigation of DTHA outbreaks and other diseases. In the DTHA outbreaks that occurred in Minas Gerais between 2012 and 2022, out of 376 involving food, only 45.2% had their causal agents identified and of the 73 involving water consumption, 36%. The low percentage of identification was possibly due to the gaps identified in this study (incomplete completion of the survey forms to guide analyzes and methodologies for the research of new pathogens) that compromised the identification of the causal agents. Given this scenario, the objective of this work was to strengthen laboratory and epidemiological surveillance actions, introducing a new analytical parameter: the search for viral agents by molecular biology (RT-PCR). Of the 15 outbreaks involving food that occurred in the state between January and July 2023, three were directed to research of these viral agents, two rotaviruses were identified. When monitoring the quality of fresh water consumed by the Maxakali indigenous community, located in Vale do Mucuri, MG, between March and August 2023. The viral agents were not detected, but the presence of total coliforms and *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* ssp. *enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* at points of consumption. Although research into viral agents was adopted to assess the quality of drinking water in Maxakali indigenous communities due to constant ADD outbreaks, they were not isolated, but the monitoring carried out revealed that all villages presented a high risk of outbreaks occurring, because they do not meet the potability standard (presence of *E. coli*), and because of the presence of enteropathogens. The intervention measures adopted were able to mitigate the risk, contributing to improving the quality of life of this vulnerable population. The introduction of research into viral agents to expand laboratory diagnosis of water and food involved in DTHA outbreaks was a promising strategy for elucidating inconclusive cases.

**Keywords:** Waterborne and foodborne diseases. Enteric viruses. Maxakali. Water. Food. Viral detection.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de organização do Sistema Nacional de Laboratórios.....	17
Figura 2 - Dados do Centers for Disease Control and Prevention, Centro de Vigilância de Doenças dos Estados Unidos (CDC), considerando 16 etiologias causais, publicados na plataforma NORS DASBOARD .....	19
Figura 3 - Dados do Centers for Disease Control and Prevention, Centro de Vigilância de Doenças dos Estados Unidos (CDC), publicados na plataforma NORS DASBOARD- Etiologia Viral por ano .....	20
Figura 4 - Dados do Centers for Disease Control and Prevention, Centro de Vigilância de Doenças dos Estados Unidos (CDC), publicados na plataforma NORS DASBOARD- Norovírus.....	21
Figura 5 - Série histórica de DTHA, Brasil, 2013 a 2022.....	22
Figura 6 - Número de surtos de DTHA no Brasil no período de 2013 a 2022.....	22
Figura 7 - Percentual de surtos de origem alimentar identificados no Brasil no período de 2013-2022 de acordo com o agente etiológico envolvido .....	23
Quadro 1 - Condições de amplificação para RT-qPCR .....	32
Figura 8 - Localização geográfica das aldeias Maxakali, Minas Gerais – Brasil .....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados da pesquisa de agentes virais em alimentos envolvidos em surtos de DTA ocorridos em Minas Gerais entre janeiro e julho de 2023 .....	45
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	American Public Health Association
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLS	Caldo Lactosado Simples
DATASUS	Departamento de Informática do SUS
DDA	Doença Diarreica Aguda
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSEI-MG/ES	Distrito Sanitário Especial Indígena de Minas Gerais e Espírito Santo
DTA	Doença de Transmissão Alimentar
DTHA	Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA	European Food Safety Authority
EMRO	Eastern Mediterranean Region
EPA	Environmental Protection Agency
ESP	Eventos de Saúde Pública
EUA	Estados Unidos da América
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
GI	Genogrupo I
GII	Genogrupo II
ICSAP	Internações por Condições Sensíveis à Atenção Primária
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruse
IOM	Instituto Octávio Magalhães
LACEN	Laboratórios de Saúde Pública
LACEN/MG	Laboratório Central de Saúde Pública de Minas Gerais
LIA	Lisina Ferro
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight
MS	Ministério da Saúde
MUG	Methyl-Umbelipheil-Glucuronide
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONG	Orto Nitrofenil-Beta-Galactopiranosídeo

PCR	Polymerase Chain Reaction – Reação em cadeia da polimerase
RAV	Rotavírus A
RT-PCR	Transcrição reversa em reação de cadeia de polimerase
RV	Rappaport Vassiliadis
SASISUS	Subsistema de Atenção à Saúde Indígena
SES/MG	Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISLAB	Sistema de Laboratórios de Saúde
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SS	<i>Salmonella Shigella</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TSI	Tríplice Açúcar Ferro
TT	Tetrationato
WHO	World Health Organization
XLD	Xilose Lisina Desoxicolato

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
2.1	VIGILÂNCIA LABORATORIAL E EPIDEMIOLÓGICA .....	16
2.2	DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR .....	17
2.3	DADOS DE NOTIFICAÇÃO DAS DTHA NO ESTADO DE MINAS GERAIS .....	28
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>30</b>
3.1	GERAL .....	30
3.2	ESPECÍFICOS .....	30
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
4.1	INTRODUÇÃO DA METODOLOGIA DE PESQUISA DE DETECÇÃO VIRAL EM ALIMENTOS ENVOLVIDOS EM SURTOS DE TOXINFECÇÃO ALIMENTAR OCORRIDOS EM MINAS GERAIS.....	31
4.1.1	<b>Seleção das amostras</b> .....	<b>31</b>
4.1.2	<b>Análises</b> .....	<b>31</b>
4.1.3	<b>Metodologia de detecção viral</b> .....	<b>31</b>
4.2	INTRODUÇÃO DA METODOLOGIA DE PESQUISA DE DETECÇÃO VIRAL NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA <i>IN NATURA</i> CONSUMIDA PELA COMUNIDADE INDÍGENA MAXAKALI, SITUADA NO VALE DO MUCURI, MINAS GERAIS .....	32
4.2.1	<b>Área e população de estudo</b> .....	<b>33</b>
4.2.2	<b>Coleta das amostras de água</b> .....	<b>34</b>
4.2.3	<b>Parâmetros analisados</b> .....	<b>35</b>
4.2.4	<b>Quantificação de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> (Técnica de Número Mais Provável - NMP/ 100 mL)</b> .....	<b>35</b>
4.2.5	<b>Pesquisa da <i>Salmonella</i> spp.</b> .....	<b>36</b>
4.2.6	<b>Pesquisa de vírus entéricos</b> .....	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
5.1	ARTIGO 1.....	38
5.2	ARTIGO 2.....	51
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A vigilância em saúde tem como propósito observar e analisar de forma contínua a situação de saúde da população, a fim de controlar os determinantes, os riscos e os danos, garantindo a integralidade da atenção à saúde (BRASIL, 2010). As ações de diferentes áreas do sistema de vigilância e controle são necessárias para mitigar ou eliminar os riscos advindos do ambiente, dos produtos, dos serviços e do contato entre pessoas e entre pessoas e animais (BRASIL, 2018). É importante considerar que as estratégias de vigilância e controle de agravos na prevenção à saúde devem se concentrar no conceito de “*ONE HEALTH*” (Saúde Única), que trata da integração entre a saúde humana, a saúde animal e a saúde do ambiente (BRASIL, 2010).

A vigilância das doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) têm como principal objetivo recomendar medidas e ações para redução das morbimortalidades causadas pelas DTHA. Surto de DTHA é caracterizado como um evento em que duas ou mais pessoas apresentam sinais e sintomas semelhantes após ingerirem alimentos e/ou água da mesma origem. Nos países em desenvolvimento, as doenças diarreicas persistem como uma das 10 principais causas de morte, representando um desafio global significativo. No entanto, entre 2000 e 2019, houve uma redução considerável no número absoluto de mortes, caindo de 1,9 milhões para 1,1 milhões, indicando progresso na abordagem desse problema de saúde (BRASIL, 2020b; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

É fundamental o aprimoramento na investigação epidemiológica das DTHA, no entanto, a maioria das pesquisas microbiológicas está direcionada para bactérias, com pouca ênfase para outros grupos patogênicos. A ênfase na pesquisa de bactérias ocorre, em parte, porque essas são os patógenos prevalentes nos surtos, mas também devido à falta de diagnósticos que destaquem a real importância de vírus e outros patógenos (ALADHAHD, 2023). Os vírus entéricos têm relevância reconhecida como causadores de DTHA, mas ainda são negligenciados devido às dificuldades dos métodos de detecção e quantificação. Não há atualmente, um único método internacionalmente validado que seja adequado para qualquer tipo de alimento (BRANDÃO, 2022; TRZAŃSKOWSKA; HUNT; RODRÍGUEZ-LÁZARO, 2022). A norma ISO/TS 15216:2017 é uma normatização internacional utilizada como referência para a detecção de vírus (hepatite A e norovírus) em alimentos, como mariscos, frutos

vermelhos, produtos frescos e águas engarrafadas (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2017). Além de fornecer informações sobre como extrair os vírus a partir das diferentes matrizes alimentares, como extrair os ácidos nucleicos a partir dos vírus extraídos, e quais os métodos usar para detectar as sequências alvo nos ácidos nucleicos extraídos.

Para pesquisa de vírus em outros alimentos ou outros vírus diferentes do especificado na norma é importante o desenvolvimento de estudos para padronizar e validar o método descrito, ou seja, uma validação adequada como o uso de conjuntos de primers e sondas dirigidas a alvos específicos (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2017). A falta de infraestrutura nos laboratórios públicos para o diagnóstico molecular também é uma limitação. É importante destacar que a investigação em alimentos se torna, a cada dia, uma exigência no âmbito da saúde pública, pois não existe uma legislação que estabeleça critérios para a segurança alimentar em relação à presença de vírus em alimentos.

Dependendo do contexto socioeconômico e do tipo de agente etiológico envolvido, as DTHA podem se espalhar pelo mundo, assumindo menor ou maior importância, com significativas perdas, tanto na saúde quanto na economia (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020; ARAGRANDE; CANALI, 2020). As complicações graves geram altos custos com hospitalizações e prejuízos econômicos, devido às ausências nos postos de trabalho, fechamento de comércios e ao impacto nos locais identificados como pontos turísticos (HOFFMANN; SCALLAN, 2017).

O estudo de Dhaliwal *et al.* (2021) avaliou as estimativas do custo das hospitalizações associadas aos agentes causais de DTHA nos Estados Unidos da América, utilizando dados da Pesquisa Nacional de Pacientes Internados de janeiro de 2012 a setembro de 2015. A gravidade da DTHA, associada ao tipo de patógeno envolvido e à influência no tempo de internação, foi considerada como o principal fator de custo das hospitalizações. O custo médio de hospitalização naquele estudo foi de US\$ 17.515, variando entre US\$ 11.552 para *Campylobacter* e US\$ 34.206 para norovírus.

No estudo de Silva, Chaoubah e Campos (2023), ao analisar a prevalência e os gastos com Internações por Condições Sensíveis à Atenção Primária (ICSAP) em Minas Gerais nos anos de 2009 e 2014, verificou-se que a gastroenterite na população infantil é uma das cinco principais causas de ICSAP (pneumonias bacterianas,

gastroenterites, asma, doenças pulmonares e infecções do rim e trato urinário), com alteração apenas na ordem de prevalência.

Conforme ao estudo de Garcia, Machado e Severine (2020), a contaminação dos alimentos pode ocorrer quando são expostos a ambientes contaminados ou durante o momento de preparação, caso o manipulador seja portador de algum microrganismo. Os vírus entéricos também são considerados agentes causais de doenças de transmissão hídrica, sendo responsável por 30 a 90% das gastroenterites em todo o mundo. Por ano, registram-se aproximadamente dois milhões de mortes, principalmente em crianças menores de cinco anos (PERANOVICH, 2019).

Os desafios de um processo de investigação são grandes, pois muitos casos são subnotificados e, conseqüentemente, acabam prejudicando as ações estratégicas e a avaliação real da dimensão do problema por falta de dados (FINGER *et al.*, 2019). É importante destacar que a confirmação de um surto se dá por evidências clínicas, epidemiológicas e/ou laboratoriais com amostras clínicas, de alimentos e água (BRASIL, 2010).

A etapa de coleta de amostras e a definição de qual análise é mais apropriada para a identificação do agente são algumas das lacunas que podem comprometer o isolamento bem-sucedido, dificultando assim a associação entre a etiologia e o surto (CHAI *et al.*, 2019). Além disso, existe uma limitação relacionada ao escopo analítico dos laboratórios de saúde pública devido à multiplicidade de agentes causais associados aos surtos de DTSA e aos custos relacionados às análises, principalmente de base molecular, que acabam impactando na capacidade de resposta laboratorial.

Diante do exposto, os desafios descritos acima, nos motivaram na busca por estratégias laboratoriais mais abrangentes e eficazes, propondo a ampliação do diagnóstico laboratorial como estratégia de vigilância laboratorial e epidemiológica pelo Laboratório Central de Saúde Pública de Minas Gerais (LACEN/MG), por meio de frentes delineadas para a mitigação de riscos para a população geral e indivíduos vulneráveis como idosos, crianças e indígenas.

O presente trabalho teve como objetivos: Introduzir a metodologia de pesquisa de detecção viral em alimentos envolvidos em surtos de toxinfecção alimentar ocorridos em Minas Gerais no período de janeiro a julho de 2023; Ampliar o escopo do diagnóstico viral na avaliação da qualidade da água *in natura* consumida pela comunidade indígena Maxakali, situada no Vale do Mucuri, Minas Gerais, no período de março a agosto de 2023, com o intuito de aprimorar a detecção de potenciais



agentes patogênicos e contribuir para a implementação de medidas preventivas específicas voltadas à saúde dessa população.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

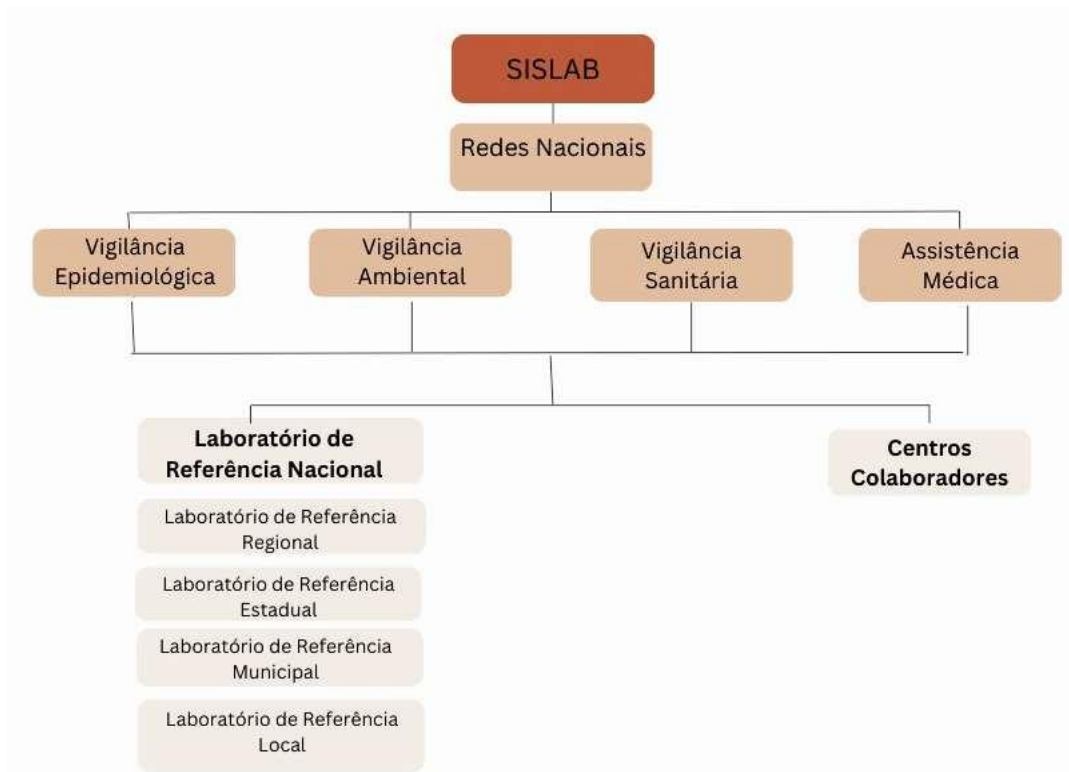
### 2.1 VIGILÂNCIA LABORATORIAL E EPIDEMIOLÓGICA

A Vigilância Laboratorial e a Vigilância Epidemiológica fazem parte do Sistema Nacional de Laboratórios (SISLAB), conforme estabelecido pela Portaria GM/MS N.º 2031, de 23 de setembro de 2004 (BRASIL, 2004). O SISLAB constitui um conjunto de redes nacionais de laboratórios, organizadas horizontalmente em sub-redes, por agravos ou programas, de forma hierarquizada pelo grau de complexidade das atividades relacionadas à vigilância em saúde, compreendendo a vigilância epidemiológica e vigilância em saúde ambiental, vigilância sanitária e assistência médica (conforme representado na Figura 1). Vinculadas às sub-redes estão as instâncias de execução do SUS, organizadas verticalmente e denominadas Centros Colaboradores, Laboratórios de Referência Nacional, Laboratórios de Referência Regional, Laboratórios de Referência Estadual (Laboratórios de Saúde Pública - LACEN), Laboratórios de Referência Municipal e Laboratórios de Fronteira (BRASIL, 2017).

Dentre os Laboratórios de Referência Nacional, Regional e Estadual em Minas Gerais, a Fundação Ezequiel Dias (FUNED), vinculada à Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES/MG), exerce esses papéis. Em sua organização, o Instituto Octávio Magalhães (IOM) representa o LACEN-MG, que atua de forma integrada com todo o Sistema de Saúde Pública do Estado e demais redes do País, cumprindo com excelência o seu papel de participar do fortalecimento do Sistema Único de Saúde (SUS), protegendo e promovendo a saúde (MINAS GERAIS, 2020).

O LACEN-MG tem a responsabilidade de realizar ensaios de menor e de maior complexidade como complementação do diagnóstico, além de realizar a padronização e o desenvolvimento de metodologias analíticas. Adicionalmente, desempenha um papel fundamental na capacitação de recursos humanos e na supervisão de laboratórios regionais, municipais, estaduais e nacionais.

Figura 1 – Fluxograma de organização do Sistema Nacional de Laboratórios



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

## 2.2 DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR

As DTHA podem se manifestar através de diferentes mecanismos de ação, como intoxicação, que ocorre pela ingestão de toxina produzida por algum micro-organismo, como a toxina de *Staphylococcus*. Também podem ocorrer por infecção, resultante da ingestão de alimentos contendo patógenos como *Salmonella*, vírus da hepatite A, rotavírus, norovírus ou por toxinfecção com produção de toxinas durante a multiplicação dos patógenos no intestino humano (BRASIL, 2010). São registradas mais de 250 DTHA no mundo, causadas principalmente por bactérias e suas toxinas, parasitas, vírus e substâncias químicas.

Os sintomas comuns incluem náuseas, vômitos, cólicas abdominais, febre, diarreia e falta de apetite, podendo ocorrer afecções extraintestinais mais graves em diferentes órgãos, como rins, fígado, sistema nervoso central, dentre outros, podendo levar a óbito em alguns casos. A intensidade dos sintomas depende de diversos fatores, como agente etiológico envolvido, dose infectante, condições de saúde do indivíduo afetado, entre outros (BRASIL, 2023b).

A maioria das pesquisas é direcionada para bactérias, com pouca ênfase para outros grupos patogênicos. Isso ocorre em parte porque as bactérias são os patógenos mais pesquisados nos surtos, mas também por falta de diagnósticos que mostrem a real importância de vírus e outros patógenos nesses surtos (ALADHAHD, 2023; BRANDÃO 2022). Os vírus entéricos possuem relevância reconhecida como causadores de DTHA, mas ainda são extremamente negligenciados, devido às dificuldades dos métodos de detecção e quantificação, falta de infraestrutura dos laboratórios de diagnóstico molecular, dentre outros (BRANDÃO, 2022; TRZĄSKOWSKA; HUNT; RODRÍGUEZ-LÁZARO, 2022).

No contexto dos laboratórios brasileiros, torna-se claro que a metodologia de pesquisa de vírus entéricos ainda não foi amplamente integrada nos portfólios da maioria dos laboratórios públicos. A análise do perfil analítico dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública destaca uma lacuna significativa nessa área crucial de pesquisa.

Conforme o levantamento realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), disponível em <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/anvisa-divulga-perfil-analitico-de-laboratorios-da-rede>, verifica-se que, dos 27 Laboratórios Centrais de Saúde Pública distribuídos pelo Brasil, apenas um laboratório na região nordeste inclui a pesquisa de vírus da Hepatite A em sua área de atuação em alimentos. A situação não difere substancialmente quando se trata de Norovírus e Rotavírus em amostras de água, conduzidas por apenas um laboratório na região sul do país (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019).

Em um cenário um pouco mais promissor, a pesquisa de bacteriófagos indicadores do vírus da hepatite A apresentou um avanço notável. O painel interativo da ANVISA, baseado na plataforma Microsoft Power BI, revela que, em janeiro de 2024, quatro laboratórios em todo o país estão engajados nesse tipo de ensaio.

Estes dados reforçam a necessidade de ampliação e fortalecimento das capacidades laboratoriais, especialmente no que diz respeito à detecção de vírus entéricos em alimentos e água, visando garantir a segurança alimentar e a saúde pública em todo o território brasileiro.

Segundo dados do Centers for Disease Control and Prevention, Centro de Vigilância de Doenças dos Estados Unidos (CDC), publicados na plataforma NORS DASBOARD, ao selecionar os agentes etiológicos envolvidos em surtos de DTHA, estimou-se a ocorrência de 5.492 surtos no período de 2012 a 2021, uma média de

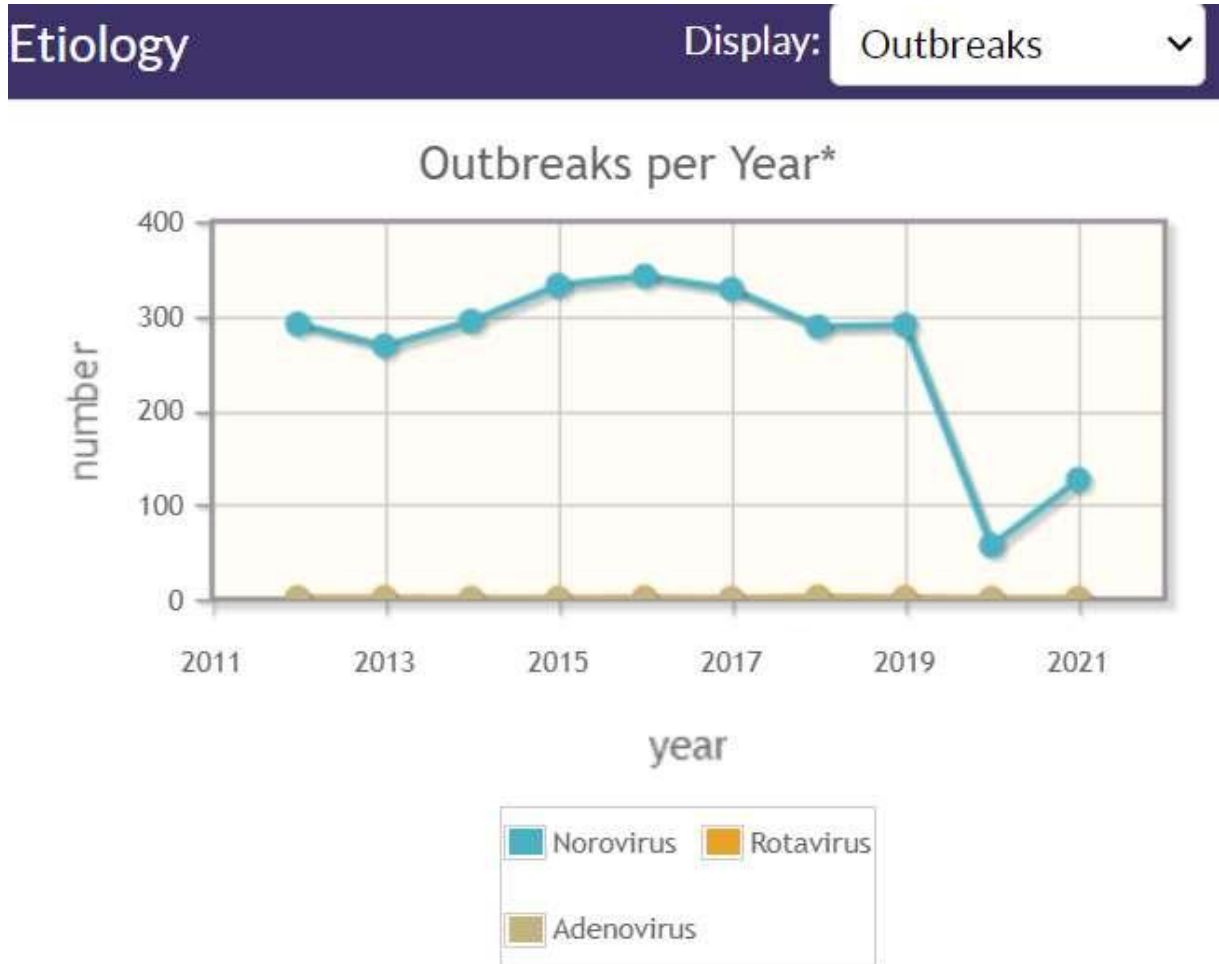
549 surtos por ano. Foram 113.742 pessoas doentes, 9.314 hospitalizadas e 234 mortes causadas por agentes bacterianos e virais ([wwwn.cdc.gov/norsdashboard/](http://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/)), sendo mais prevalentes as bactérias *Salmonella*, *Staphylococcus* e o norovírus (Figura 2). Ao analisar o perfil dos agentes virais, como adenovírus, norovírus e rotavírus, os dados mostraram, ao longo desses 10 anos, 2.630 surtos, 52.310 pessoas doentes, 499 hospitalizações e 11 mortes (Figura 3), sendo a maioria referente à Norovírus (Figura 4) (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022).

Figura 2 - Dados do Centers for Disease Control and Prevention, Centro de Vigilância de Doenças dos Estados Unidos (CDC), considerando 16 etiologias causais, publicados na plataforma NORS DASBOARD



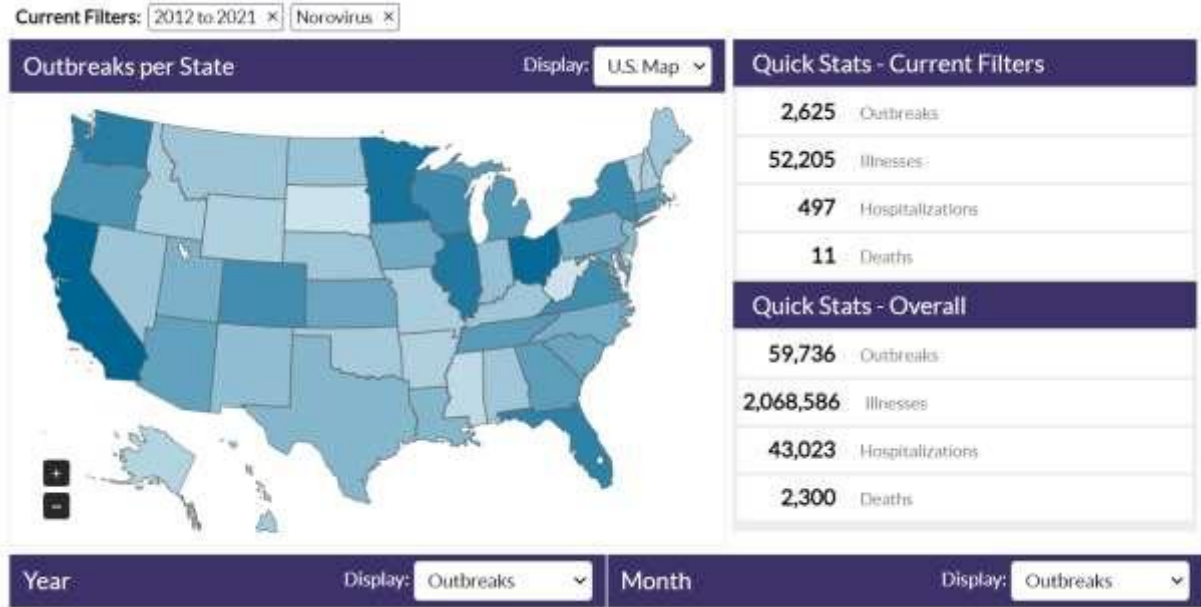
Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2022).

Figura 3 - Dados do Centers for Disease Control and Prevention, Centro de Vigilância de Doenças dos Estados Unidos (CDC), publicados na plataforma NORS DASBOARD- Etiologia Viral por ano



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2022).

Figura 4 - Dados do Centers for Disease Control and Prevention, Centro de Vigilância de Doenças dos Estados Unidos (CDC), publicados na plataforma NORS  
DASHBOARD- Norovírus



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2022).

Em 2023, a European Food Safety Authority (EFSA) divulgou os dados referentes a 2022 fornecidos pelo European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Nesse período, foram registrados 5.763 surtos na União Europeia, afetando 48.605 pessoas, resultando em 2.783 hospitalizações e 64 óbitos. Notavelmente, a maioria dos surtos envolveu agentes bacterianos, responsáveis pelo maior número de casos, hospitalizações e fatalidades. Entre esses agentes, a bactéria *Salmonella* se destacou como a principal responsável pelas DTHA. Quanto aos agentes virais, os norovírus foram os mais frequentes (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2023).

Segundo dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) / Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) / Ministério da Saúde (MS) divulgados no informe de 2023, no período de 10 anos (2013 a 2022), foram notificados, por ano, uma média de 652 surtos de DTHA, acometendo 107.513 doentes, 12.722 hospitalizados e 112 óbitos (Figuras 5 e 6). Na distribuição dos agentes causais, *Salmonella* e *Staphylococcus* apareceram como os principais agentes etiológicos identificados e, dentre o grupo viral, identificaram-se norovírus e rotavírus, que

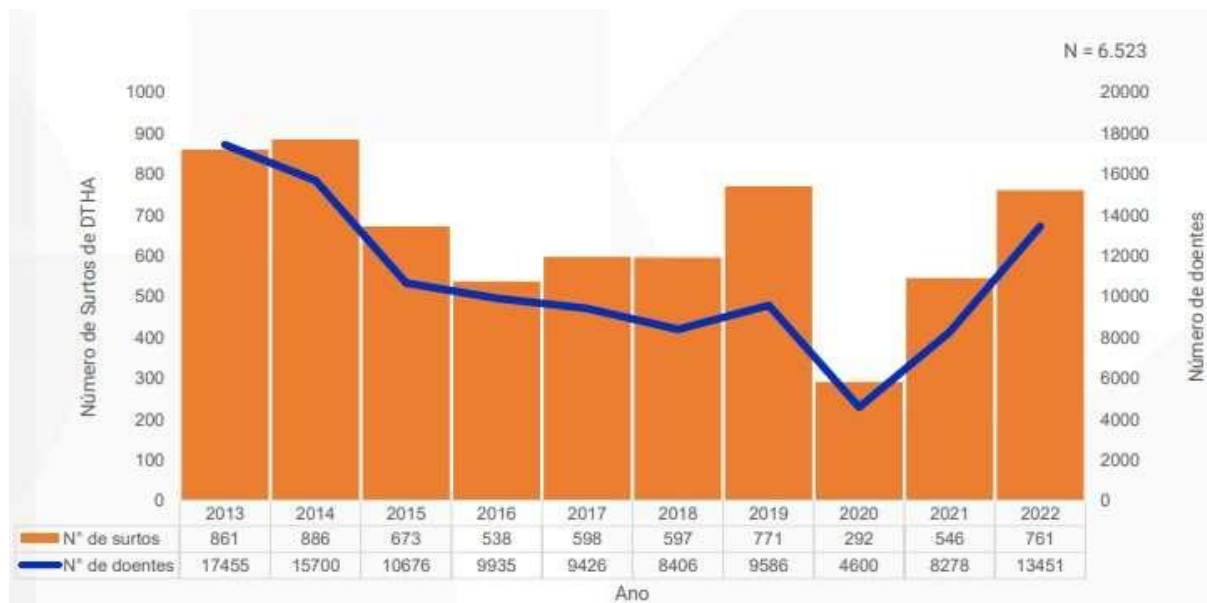
ocuparam a 5ª e a 6ª posição do ranking, com 6,2% e 4,6% respectivamente (Figura 7) (BRASIL, 2023b).

Figura 5 - Série histórica de DTHA, Brasil, 2013 a 2022

Ano	Nº de surtos	Nº de expostos	Nº de doentes	Nº de hospitalizados	Nº de óbitos	Letalidade
2013	861	64362	17455	1893	8	0,05
2014	886	124359	15700	2524	9	0,06
2015	673	37165	10676	1453	17	0,16
2016	538	200896	9935	1406	7	0,07
2017	598	47409	9426	1439	12	0,13
2018	597	57297	8406	916	9	0,11
2019	771	17388	9586	1301	10	0,10
2020	292	10548	4600	595	6	0,13
2021	546	17076	8278	639	10	0,12
2022	761	33160	13451	556	24	0,18
<b>Total</b>	<b>6.523</b>	<b>609.660</b>	<b>107.513</b>	<b>12.722</b>	<b>112</b>	<b>0,10</b>

Fonte: (BRASIL, 2023b).

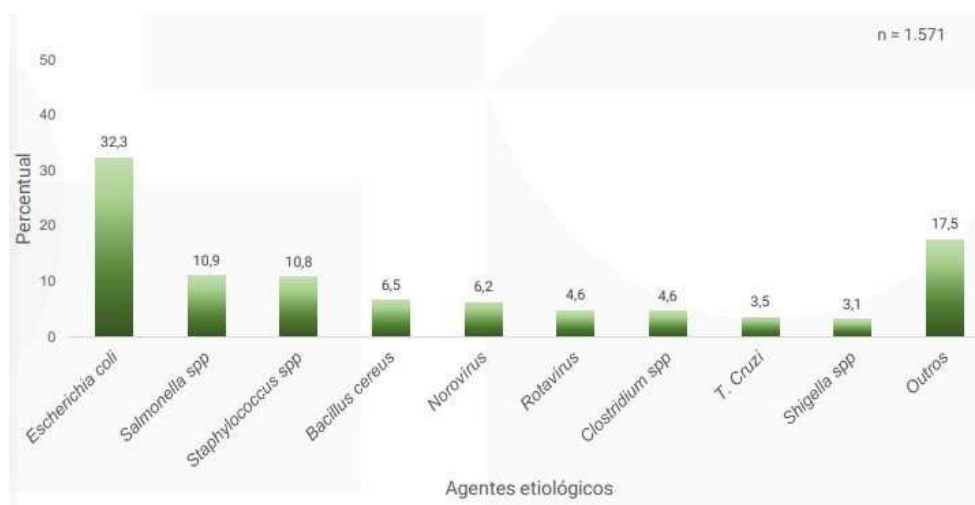
Figura 6 - Número de surtos de DTHA no Brasil no período de 2013 a 2022



Fonte: (BRASIL, 2023b).



Figura 7 - Percentual de surtos de origem alimentar identificados no Brasil no período de 2013-2022 de acordo com o agente etiológico envolvido



Fonte: (BRASIL, 2023b).

Em comparação com os dados do CDC e EFSA, o resultado do MS no Brasil demonstrou um pequeno percentual de surtos atribuídos a vírus entéricos, provavelmente não retratando a realidade, pois na maioria dos surtos, esse grupo não foi pesquisado pelos laboratórios, devido ao alto custo das técnicas de biologia molecular e dificuldade na padronização da metodologia (BRASIL, 2023b). É fundamental destacar que maioria dos laboratórios públicos brasileiros não tem a metodologia de pesquisa de vírus entéricos implementada nos seus escopos analíticos.

O rotavírus é responsável pela maioria dos casos de diarreia em crianças abaixo de cinco anos de idade, podendo afetar a população geral, principalmente em locais de grande vulnerabilidade (BRASIL, 2023a).

Fatores como a falta de vacinação, a variedade de mecanismos que afetam a geração de resposta imunológica e o surgimento de novos genótipos circulantes, podem favorecer o aparecimento de surtos.

Apesar da existência da vacina contra o RV, dados de monitoramento nas regiões das Américas, Europa, Ásia e Oceania nos anos de 2017 e 2018, estimam que esse agente viral foi responsável por 208 mil mortes e 33% das internações, causando um impacto significativo na economia (COHEN *et al.*, 2022; OPERARIO *et al.*, 2017). Mesmo com a vacinação contra o RV oferecendo uma proteção aceitável, é crucial ressaltar que o consumo de água potável e práticas de higiene continuam

sendo estratégias fundamentais de prevenção (GUTIERREZ, 2023; SAHA *et al.*, 2021).

Por outro lado, o Norovírus é o principal agente causador de gastroenterites em todas as faixas etárias. Essas partículas virais são notáveis pela resistência, mantendo-se infecciosas por até duas semanas em superfícies ambientais (VINJÉ *et al.*, 2019). Os surtos ocorrem principalmente em ambientes fechados, como escolas, hospitais, cruzeiros, instituições de longa permanência para idosos e restaurantes. Possui uma alta taxa de mutação, o que permite o surgimento de novas variantes e também mais resistentes. Em sua classificação são identificados 10 genogrupos e 49 genótipos. Os mais predominantes são GI.1 e GII.4, sendo o segundo, o responsável por implicações mais graves, como hospitalizações. Nenhuma vacina está disponível, mas a candidata HIL-214 passou na fase clínica 2b e se mostra promissora (CHHABRA *et al.*, 2019; LUCERO *et al.*, 2021; ROBILOTTI; DERESINSKI; PINSKY, 2015; WINDER; GOHAR; MUTHANA, 2022).

A hepatite A é uma infecção causada pelo vírus A da hepatite, é uma doença de caráter benigno, a letalidade da doença é rara, mas em idosos o risco é maior, enquanto, em crianças, cerca de 70% são assintomáticas ou os sintomas são leves. Uma das fontes de transmissão é a ingestão de alimentos ou água contaminados, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) ocorrem em países com saneamento básico ineficiente e pouco acesso à higiene, atingindo aproximadamente 1,5 milhão de pessoas a cada ano. Devido à sua natureza assintomática, é provável que a taxa de infecção seja ainda maior (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). Com a melhoria das condições higiênicas e sanitárias, a incidência dessas doenças diminui (YOON *et al.*, 2017). Após a infecção, os anticorpos produzidos impedem nova infecção, produzindo uma imunidade duradoura. A principal medida de prevenção contra a hepatite A é a vacinação, altamente eficaz e segura (BRASIL, 2023a).

A OMS considera as DTHA uma grande preocupação de saúde pública global, sendo responsáveis pelas altas taxas de mortalidade/morbidade. Estimam que, a cada ano, causem o adoecimento de uma a cada 10 pessoas, o que corresponde a 33 milhões de anos de vida perdidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

Corroborando com esses dados, o infográfico da OMS da região do Mediterrâneo - Eastern Mediterranean Region (EMRO), com base no levantamento de dados, demonstra que a cada ano mais de 100 milhões de pessoas adoecem em decorrência das DTHA, sendo que 37.000 evoluem para óbito. Dentre os doentes, 32

milhões correspondem a faixa etária 0-5 anos, e setenta por cento dessas doenças são do tipo diarreicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019a).

No cenário global de doenças, em 2019 as doenças diarreicas contribuíram com aproximadamente 3,19% do total de anos de vida ajustados por incapacidade, e houve uma redução significativa (mudança anual de - 4,22%) em comparação com o ano anterior. Isso sugere progresso na prevenção, tratamento ou gestão dessas doenças ao longo do tempo (INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION, 2020). No entanto, essas doenças diarreicas continuam sendo um problema significativo em países de baixa e média renda, onde as condições sanitárias, acesso à água potável e práticas de higiene são indicadores de saúde desafiadores.

O aumento da população mundial tem contribuído para esses resultados, pois ocorrem mudanças frequentes tanto na cadeia de produção dos alimentos como no ambiente, o que tem favorecido o aumento na incidência de doenças como a DTHA (HORN; FRIEDRICH, 2019).

Um fator determinante para a ocorrência de surtos que envolvem alimentos e que influenciam na proliferação dos agentes etiológicos relacionam-se com as falhas na preparação das refeições como higiene precária, quantidade excessiva e exposição prolongada do alimento à temperatura ambiente, descongelamento inadequado, aquecimento, cocção e reaquecimento insuficiente (SIRTOLI; CAMARELLA, 2018).

Para a investigação epidemiológica dos surtos e agravos de DTHA, é necessária, como estratégia, a integração das diferentes áreas para a busca de respostas e a formulação de medidas de prevenção e promoção que garantam a saúde da população. A etapa da investigação inicia-se com a atividade de campo, ou seja, no local de ocorrência do evento, com entrevistas e registro das informações, como identificação da fonte de risco e modo de transmissão, identificação dos grupos expostos, sinais e sintomas, período de incubação, casos hospitalizados e registro de óbitos (BRASIL, 2021).

As lacunas existentes no processo de investigação são das mais diversas, que vão desde o preenchimento incorreto das informações da ficha de inquérito, o envio de alimentos envolvidos até a distribuição não homogênea do microrganismo no alimento e o grau de estresse do agente na matriz analisada. É a partir das informações registradas nas fichas de investigação que o laboratório direciona a

pesquisa para a identificação do agente etiológico envolvido no surto/agravo (BRASIL, 2018).

Quando um patógeno não é determinado, é importante conhecer a exposição específica de cada grupo causal, pois as variáveis como sinais/sintomas e o período de incubação podem contribuir com as equipes de investigação, hipotetizando etiologias prováveis (CHAI *et al.*, 2019).

Após a ingestão do alimento contaminado como na intoxicação por *S. aureus* os sinais e sintomas podem se manifestar rapidamente (de 1 a 8 horas) ou apresentar uma manifestação mais prolongada (de 12 a 72 horas), como observado em infecções por *E.coli* patogênica, por *Salmonella* ou por vírus. Portanto, o intervalo de tempo entre a manifestação dos primeiros sinais e sintomas e a notificação tem fundamental importância, principalmente na identificação de circunstâncias ou fatores de riscos associados ao surto em que o alimento e/ou água são apontados como fonte de veiculação (BRASIL, 2017).

As bactérias são os agentes mais associados aos surtos de origem alimentar em todo o mundo, com alta prevalência nos países em desenvolvimento seguidos pelos vírus (HEMALATA, VIRUPAKSHIAH, 2016).

O agente viral tornou-se uma preocupação para a indústria alimentícia e para as agências reguladoras, se destacando entre as prioridades de segurança alimentar nos últimos anos (MIRANDA; SCHAFFNER, 2019). Os vírus transmitidos por alimentos não se multiplicam nos alimentos como as bactérias, mas são estáveis em diversos ambientes. O manuscrito de Boscha *et al.* (2018) destaca as lacunas de conhecimento e compreensão sobre a aplicação de estratégias de detecção viral, pois as medidas de controle para vírus precisam ser estudadas e melhor compreendidas, da mesma forma, os fatores como higiene pessoal de manipuladores de alimentos e outras fontes de riscos precisam ser avaliadas (BOSCHA *et al.*, 2018).

A falta de metodologia disponível para a pesquisa de mais agentes etiológicos bacterianos, protozoários e vírus no escopo analítico do laboratório é um ponto importante, pois pode influenciar na ausência de identificação. Truchado e Randazzo (2022) demonstram, com os resultados dos seus estudos, a importância da utilização de métodos moleculares específicos baseados em *Polymerase Chain Reaction* – Reação em cadeia da polimerase (PCR), tais como: Endpoint PCR, Multiplex PCR e RT-PCR, etc, para se avançar no conhecimento atual de detecção e identificação dos

diferentes agentes patogênicos que continuam a representar um risco significativo para a saúde pública.

Outro fator determinante para ocorrência de surtos, como descrito no estudo de Vitor *et al.* (2021) destaca a relação entre as condições de saneamento básico com as doenças diarreicas agudas, comumente denominadas de DTHA. Essas doenças não se limitam às áreas urbanas, mas também às áreas rurais e às populações mais vulneráveis, tais como crianças abaixo de cinco anos, idosos, gestantes, imunocomprometidos e povos indígenas (VITOR *et al.*, 2021).

São áreas e/ou comunidades muitas vezes sem sistema de tratamento de água, portanto são indicadores que merecem maior atenção nos programas de monitoramento, pois essa precariedade acaba contribuindo para a proliferação de patógenos e conseqüentemente aumento nos números de episódios de diarreia (PERANOVICH, 2019).

Ao tratar das populações mais frágeis, é imprescindível destacar as da comunidade indígena Maxakali, localizada no Estado de Minas Gerais, que constantemente sofrem com as DDAs. Nessas aldeias, o descarte de dejetos é realizado em fossa negra e sumidouros, portanto a adoção de medidas como saneamento básico e acesso à água potável seriam capazes de alterar esse cenário. A água *in natura* é consumida sem nenhum tratamento prévio, ficando a avaliação da qualidade da água limitada a critérios de sabor e aspecto, parâmetros esses insuficientes para garantir o padrão necessário à segurança da saúde dos indivíduos (ASSIS *et al.*, 2020).

As ações para a eliminação total dos micro-organismos patogênicos nem sempre são possíveis, portanto, surtos com ou sem óbitos continuarão ocorrendo, seja de forma endêmica ou não, portanto é necessário desenvolver estratégias integradas de prevenção e controle para evitar o reaparecimento e desenvolvimento de doenças (ABEBE *et al.*, 2020; AMARAL *et al.*, 2021).

O estudo de Lombardi *et al.* (2020) verificou que, além das falhas nos procedimentos realizados pelos médicos no atendimento de casos suspeitos de DTHA, há um erro de comunicação entre os setores de investigação e unidades de saúde. Geralmente, as unidades não realizam a notificação, ou quando notificam, lançam dados incompletos, dificultando as ações dos outros órgãos (vigilância epidemiológica e vigilância sanitária) na elucidação dos surtos. Para que tais falhas sejam mitigadas é importante a realização de capacitações permanentes dos

profissionais, destacando às suas responsabilidades nos procedimentos de investigação, bem como nas ações de prevenção junto à população, orientando o autocuidado na preparação e consumo de alimentos e água para diminuir a frequência de surtos que muitas vezes pode ser prevenível pela própria comunidade.

### 2.3 DADOS DE NOTIFICAÇÃO DAS DTHA NO ESTADO DE MINAS GERAIS

No período de 2012 a 2022 foram notificados, em Minas Gerais, 683 surtos de DTHA e de acordo com as fichas de inquérito coletivo encaminhadas ao LACEN/MG foram registrados 13.078 pessoas doentes, 1.439 hospitalizações e 07 óbitos.

Embora os números sejam subestimados, pois nem todos os doentes são oficialmente registrados e nem todos os surtos ocorridos são notificados. Essa informação é essencial, pois identifica a situação de risco da doença e quando analisada de forma sistemática fornece subsídios para um maior conhecimento do problema, e uma tomada de ação mais efetiva pelas diferentes áreas de atuação da vigilância em saúde.

Nos últimos 10 anos o LACEN/MG analisou 376 surtos de DTHA relacionados à matriz de alimentos dos quais 45,2% (n=170) tiveram o agente etiológico identificado e em 54,8% (n=206) o agente causal não foi identificado. O estudo de Marinho *et al.* (2015) constatou que em 50% dos surtos ocorridos na Zona da Mata Sul de Pernambuco, o cenário foi bastante semelhante, indicando uma situação recorrente em diferentes estados brasileiros. Esses dados corroboram as informações do MS, os quais apontam um significativo percentual de surtos registrados no período de 2013 a 2022 em todas as cinco regiões do Brasil, nos quais não foi possível definir o agente etiológico (BRASIL, 2023b).

Quanto aos alimentos incriminados na maioria dos surtos, a refeição pronta foi a categoria com maior envolvimento nos surtos com 46,3% dentre as categorias levantadas. O estudo de Sirtoli e Camarella (2018) também destaca essa categoria, pois os determinantes que influenciam na proliferação de agentes causais, são as falhas na preparação de refeições.

Conhecer a categoria dos alimentos envolvidos em DTHA é um importante dado para o direcionamento das análises laboratoriais na busca dos possíveis agentes etiológicos. Matrizes perecíveis com elevado teor proteico, quando manipulados sem a adoção de boas práticas de fabricação, aliado a falhas na seleção de matéria prima

e sem o devido acondicionamento, os tornam potenciais veículos de transmissão de enteropatógenos.

Nos surtos não conclusivos, os períodos de incubação iguais ou superiores a 12 horas correspondem a 48% (n=99), com predominância de diarreia, vômito e febre indicando a possível presença de agente etiológico bacteriano ou viral não pesquisado pelo LACEN-MG.

Para complementar uma visão abrangente sobre a fonte de transmissão dos surtos das doenças diarréicas agudas (DDA) envolvendo água, os dados do Departamento de Informática do SUS (DATASUS) dos anos de 2021 e 2022 mostraram que em 64% dos surtos e 68% das amostras o agente etiológico também não foi identificado.

Analisando os dados registrados no sistema oficial do Ministério da Saúde referentes às amostras clínicas envolvidas em surtos no Estado de Minas Gerais no período de 2012 a 2023, observou-se que em 36% (n=1508) das 4140 amostras de pacientes analisadas, o agente etiológico também não foi identificado. Essas lacunas destacam a necessidade de ampliar o escopo analítico do laboratório, incluindo a pesquisa de detecção viral no portfólio analítico da LACEN/MG para fortalecer as ações de vigilância em saúde, visando uma abordagem mais abrangente e eficaz diante dos desafios contemporâneos no campo da saúde pública.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Ampliar as ações de vigilância laboratorial e epidemiológica no Estado de Minas Gerais com a introdução da metodologia de pesquisa de agentes virais no diagnóstico das DTHA como estratégia integrada de prevenção à saúde.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- a. Introduzir a metodologia de pesquisa de detecção viral em alimentos envolvidos em surtos de toxinfecção alimentar ocorridos em Minas Gerais;
- b. Ampliar o escopo com a introdução do diagnóstico viral na avaliação da qualidade da água *in natura* consumida pela comunidade indígena Maxakali, situada no Vale do Mucuri, Minas Gerais, com o intuito de aprimorar a detecção de potenciais agentes patogênicos.

Os resultados destes dois objetivos específicos serão apresentados na forma de dois artigos específicos respectivamente, após a seção “Materiais e Métodos”.



## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

Por se tratar de um projeto descritivo prospectivo, dispensa a apreciação a submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora.

### **4.1 INTRODUÇÃO DA METODOLOGIA DE PESQUISA DE DETECÇÃO VIRAL EM ALIMENTOS ENVOLVIDOS EM SURTOS DE TOXINFECÇÃO ALIMENTAR OCORRIDOS EM MINAS GERAIS**

Para investigar a presença de vírus entéricos em amostras de alimentos associadas a surtos de DTHA em Minas Gerais durante o período de janeiro a julho de 2023, o LACEN/MG conduziu análises em amostras envolvidas em 15 surtos ocorridos neste período. Os dados epidemiológicos relacionados foram extraídos das fichas de inquérito coletivo.

#### **4.1.1 Seleção das amostras**

Dos quinze surtos, três foram selecionados para a pesquisa de vírus entéricos, baseados nos sinais, sintomas e período de incubação apresentados.

#### **4.1.2 Análises**

As amostras envolvidas nos surtos selecionados foram submetidas à pesquisa tanto de patógenos bacterianos quanto de vírus da hepatite A, norovírus GI/GII e rotavírus.

#### **4.1.3 Metodologia de detecção viral**

A concentração viral foi realizada usando a metodologia de adsorção-eluição em membranas eletronegativas, conforme descrito por Katayama, Shimasaki e Ohgaki (2002) e Symonds *et al.* (2014), com modificações. As etapas incluíram homogeneização da amostra, pré-filtração qualitativa, concentração viral em membrana de nitrocelulose, adição de cloreto de magnésio, ajuste de pH e extração de ácidos nucleicos por kit comercial

Para a detecção de norovírus GI/GII e hepatite A, foi utilizado o kit comercial SureFast Norovirus/Hepatitis A 3plex (Congen). Para a detecção de rotavírus, foi utilizado o kit GoTaq 1-step RT-qPCR System (Promega).

As condições de amplificação para rotavírus foram as descritas por Logan, O'Leary e O'Sullivan (2006) e para Hepatite A e Norovirus GI e GII, as definidas pelo fabricante dos kits, estão detalhadas no quadro 1.

Quadro 1 - Condições de amplificação para RT-qPCR

<b>Alvo</b>	<b>Transcrição Reversa</b>	<b>Ativação da DNA Polimerase</b>	<b>Desnaturação / Anelamento e Extensão</b>
Hepatite A e Norovírus GI/GII	58°C por 10 minutos	95°C por 1 minuto	45 ciclos (95°C por 15 segundos e 60°C por 30 segundos)
Rotavírus	45°C por 15 minutos	95°C por 2 minutos	45 ciclos (95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

#### 4.2 INTRODUÇÃO DA METODOLOGIA DE PESQUISA DE DETECÇÃO VIRAL NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA *IN NATURA* CONSUMIDA PELA COMUNIDADE INDÍGENA MAXAKALI, SITUADA NO VALE DO MUCURI, MINAS GERAIS

No presente estudo foi proposto como recorte para a população vulnerável, a comunidade indígena Maxakali, localizada no Vale do Mucuri, Minas Gerais. A escolha dessa comunidade se deve aos frequentes episódios de doenças diarreicas agudas, e a necessidade de elaboração de estratégias de prevenção e proteção da saúde para esse grupo considerado patrimônio nacional.

Foi realizado um estudo descritivo, a partir da análise de amostras da água *in natura* dos pontos de sete aldeias. O estudo foi viabilizado por meio da parceria entre o Distrito Sanitário Especial Indígena - Minas Gerais e Espírito Santo (DSEI-MG/ES), unidade gestora descentralizada do Subsistema de Atenção à Saúde Indígena (SASISUS) e o LACEN-MG.

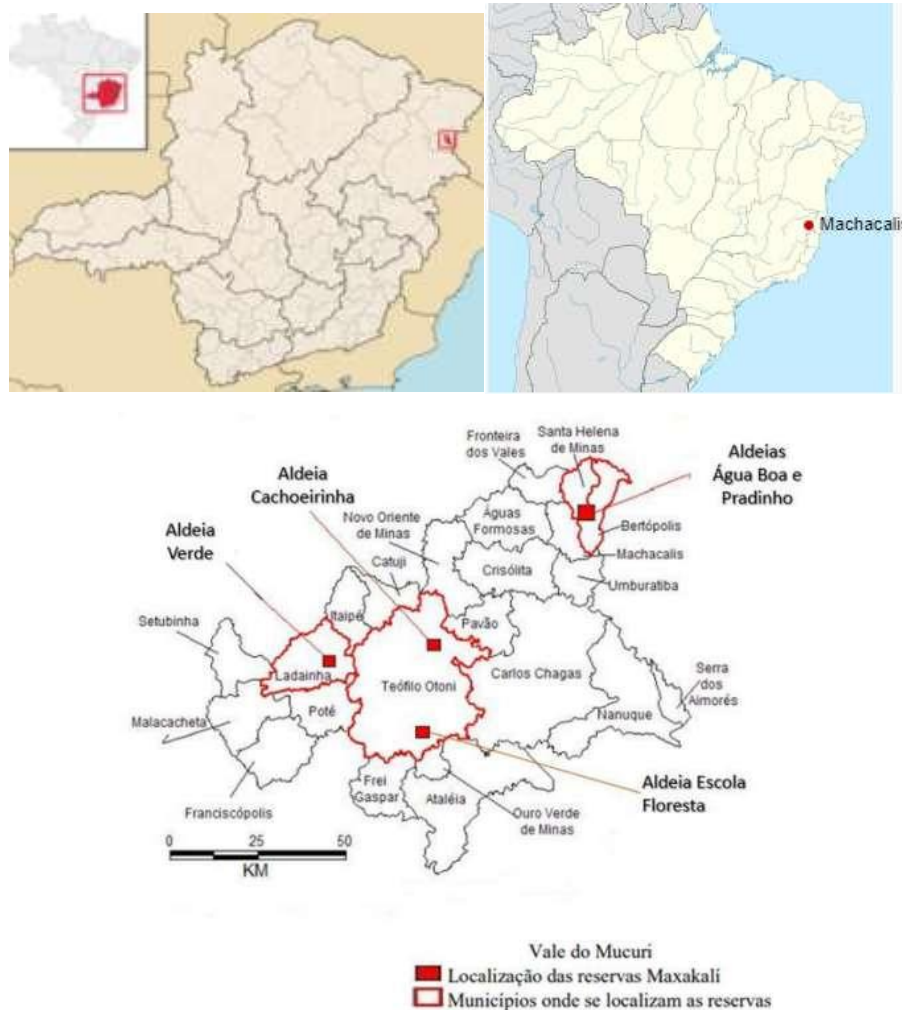
#### 4.2.1 Área e população de estudo

As terras indígenas Maxakali estão localizadas na região nordeste do estado de Minas Gerais. O território é dividido em quatro polos-base, sendo que este estudo foi realizado em apenas dois deles, por apresentar maior número de indivíduos e maior extensão territorial, aproximadamente 5305 hectares. Conforme os dados do DSEI/MG-ES, atualizados em julho de 2023, a população indígena Maxakali é de aproximadamente 2.574 indivíduos.

As aldeias foram selecionadas conforme a disponibilidade de acesso e os polos selecionados foram polo base Água Boa (município de Santa Helena de Minas Gerais com 992 indivíduos compreendendo 13 aldeias) e polo base Pradinho (município de Bertópolis com 1025 indivíduos compreendendo 08 aldeias) que fazem divisa com os estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Bahia.

No polo base Água Boa foram avaliadas as águas das aldeias, ãmãxux/Tarcílio (87 indivíduos), Joviel (18 indivíduos) e Kokiti (34 indivíduos) e no polo base Pradinho participaram do estudo as aldeias Cachoeira (13 indivíduos), Maravilha (219 indivíduos), Novila (132 indivíduos) e Vila Nova (40 indivíduos).

Figura 8 - Localização geográfica das aldeias Maxakali, Minas Gerais - Brasil



Fonte: (MACHACALIS, 2023)

#### 4.2.2 Coleta das amostras de água

O monitoramento da qualidade da água in natura dos pontos foi realizado na primeira quinzena de cada mês, no período de março a agosto de 2023, em sete pontos, um por aldeia, mapeados como fontes para consumo. As coletas foram realizadas pela equipe do DSEI/MG-ES conforme o procedimento recomendado pelo documento do MS (BRASIL, 2018). Dois frascos de polipropileno com capacidade para 1000 mL foram utilizados na coleta de cada ponto. Após a identificação, foram armazenados em caixas isotérmicas e encaminhados, sob-refrigeração (2 a 8 °C) para o LACEN/MG em até 24 horas após a coleta e o início das análises.

### 4.2.3 Parâmetros analisados

Para o teste de potabilidade, foi realizada a pesquisa de Coliformes Totais e *Escherichia coli* pelo método do substrato cromogênico/enzimático, seguindo a metodologia da American Public Health Association (2023).

Uma alíquota de 100 mL de cada amostra foi transferida para frascos estéreis e em seguida adicionado o substrato cromogênico. Após a completa dissolução, os frascos foram incubados a 35 °C por 24 horas. A presença de coliformes totais foi evidenciada pela metabolização do substrato Orto-nitrofenil beta-D-galactopiranosídeo (ONPG) pela enzima  $\beta$ -galactosidase, resultando no surgimento de coloração amarela. A presença de *Escherichia coli*, por sua vez, foi evidenciada pela metabolização do substrato 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (MUG) pela enzima  $\beta$ -glucuronidase resultando no surgimento de fluorescência quando exposta à luz ultravioleta. O resultado foi expresso como presença/ausência em 100 mL da amostra conforme preconizado pelo Anexo XX da Portaria de Consolidação N° 888 (BRASIL, 2021).

### 4.2.4 Quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli* (Técnica de Número Mais Provável - NMP/ 100 mL)

Para o processo de quantificação foi seguido uma metodologia aprovada pela Environmental Protection Agency (EPA) dos Estados Unidos com quatro etapas, sendo a 1ª etapa, a adição do reagente (substrato cromogênico) à amostra. O substrato cromogênico foi cuidadosamente introduzido na amostra, marcando o início do processo de detecção. A 2ª etapa, em que a amostra enriquecida com o reagente, foi transferida para a cartela do sistema quanti-tray 2000, cujas cavidades permitem contagens específicas na faixa de 1 a 2.419. A 3ª etapa consistiu na vedação e incubação. A cartela foi hermeticamente vedada utilizando à seladora quanti-tray. Em seguida, foi incubada a uma temperatura de (35°C  $\pm$  0,5°C) ao longo de um período de 24 horas. Por último, a 4ª etapa foi finalizada com a leitura dos resultados. Nesta fase, os resultados foram minuciosamente avaliados, realizando a contagem de poços positivos. Os poços com coloração amarela indicam a presença de coliformes totais, enquanto poços de cor amarela-fluorescentes sinaliza a presença de *Escherichia coli*.

Posteriormente, a análise foi complementada com a consulta à tabela de Número Mais Provável (NMP/100 mL).

#### **4.2.5 Pesquisa da *Salmonella* spp.**

Foi realizada pelo método de filtração em membrana. Na etapa de pré-enriquecimento, as membranas obtidas após a filtração foram transferidas para frascos estéreis contendo 200 mL de Caldo Lactosado Simples (CLS) e em seguida incubados por 18-24 horas a 35-37 °C. Para a etapa de enriquecimento seletivo, após o período incubação em CLS, uma alíquota de 1,0 mL do CLS foi transferida para 10 mL de caldo Tetrionato (TT) (Difco®, Kansas, EUA), previamente acrescido de 0,2 mL de solução de iodo. Paralelamente, uma alíquota de 0,1 mL de CLS foi transferida para um tubo contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV). Ambos, TT e RV foram preparados conforme as instruções do fabricante. Os tubos de TT foram incubados por 24 horas, a 35-37 °C e o tubo de RV a 42°C por igual período. Uma alçada dos meios TT e RV foi semeada na superfície de placas contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), Ágar Hektoen entérico (Acumedia®, Canadá, EUA) e Ágar Salmonella-Shigella (SS) todas incubadas por 18-24 horas, a 35-37 °C.

As colônias com características típicas de *Salmonella* (Lactose negativa, com ou sem H<sub>2</sub>S) foram repicadas em tubos contendo o meio tríplice açúcar ferro (TSI) e lisina-ferro (LIA) e incubadas por 24 horas. Os tubos de TSI e LIA que apresentavam perfil bioquímico característico de *Salmonella* foram semeados em tubos de ágar Citrato-Simmons incubados por 24 horas a 35-37 °C. Para obtenção do perfil bioquímico das cepas de *Salmonella* sp isoladas (Citrato positivo) utilizou-se o cartão de identificação GN no sistema automatizado VITEK® 2 (Biomérieux) e os resultados foram apresentados na tabela.

#### **4.2.6 Pesquisa de vírus entéricos**

As amostras de água in natura foram submetidas a análises de detecção viral específica para Hepatite A, norovírus GI/GII e rotavírus, considerando a extrema relevância desses agentes para a saúde pública. A metodologia empregada para o ensaio de detecção foi a adsorção-eluição em membranas eletronegativas descrita por Katayama, Shimasaki e Ohgaki (2002) e Symonds *et al.* (2014) com modificações.

Consistiu na homogeneização da amostra (2 litros) por inversão, pré-filtração qualitativa para remoção de sujidades, concentração viral em membrana de nitrocelulose de 0,8 $\mu$ m, adição cloreto de magnésio (2,5M) na proporção de 1:100 da amostra, ajuste do pH entre 3 e 3,5 com ácido acético e posterior filtração em membrana de nitrocelulose de 0,45 $\mu$ m (KATAYAMA; SHIMASAKI; OHGAKI, 2002; SYMONDS *et al.*, 2014).

A partir dessa última membrana foi realizada a extração do ácido nucléico pelo kit comercial AllPrep PowerViral DNA/RNA (Qiagen) seguindo o protocolo preconizado. A detecção dos vírus foi realizada por RT-qPCR segundo o protocolo SureFast Norovirus/Hepatitis A 3plex (Congen) e kit GoTaq 1-step RT-qPCR System (Promega).

Os iniciadores e sondas para a detecção de Hepatite A e Norovirus GI/GII foram os incluídos no kit e para a detecção de Rotavírus utilizaram-se os iniciadores e sondas descritos por Logan, O'Leary e O'Sullivan (2006). As condições de amplificação são as mesmas descritas no quadro 1.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ARTIGO 1

DETECÇÃO MOLECULAR DE ROTAVÍRUS EM ALIMENTOS ENVOLVIDOS EM SURTOS DE TOXINFECÇÃO ALIMENTAR OCORRIDOS EM POPULAÇÕES VULNERÁVEIS EM MINAS GERAIS-BRASIL: UM PROBLEMA NEGLIGENCIADO

MOLECULAR DETECTION OF ROTAVIRUS IN FOOD INVOLVED IN FOOD TOXINFECTION OUTBREAKS OCCURRING IN VULNERABLE POPULATIONS IN MINAS GERAIS-BRAZIL: A NEGLECTED PROBLEM

#### RESUMO

A presença de vírus entéricos em alimentos é uma preocupação significativa para a indústria alimentícia e para as agências reguladoras. A questão é uma das prioridades de inocuidade alimentar nos últimos anos. Entretanto, a sua pesquisa em alimentos no Brasil ainda é extremamente negligenciada. Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo realizar a pesquisa de vírus entéricos (Rotavírus, Norovírus GI/GII e Hepatite A), por meio da técnica de transcrição reversa em Reação de Cadeia de Polimerase RT-PCR em tempo real, nas amostras de alimentos envolvidos em surtos de toxinfecção alimentar, ocorridos em Minas Gerais, no período de janeiro a julho de 2023. As análises foram realizadas no Laboratório Central de Saúde Pública de Minas Gerais (LACEN/MG). Nesse período foram notificados 15 surtos, envolvendo 30 alimentos enviados ao LACEN/MG. Após a análise presuntiva das fichas de inquérito coletivo, alimentos de apenas três surtos, todos envolvendo o consumo de refeições prontas, foram direcionados para a detecção viral, dos quais dois foram confirmados positivos para rotavírus. Embora o tamanho e a representatividade das amostras incluídas neste não permita caracterizar a incidência de vírus entéricos em alimentos associados a surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), os resultados obtidos são relevantes para reafirmar a importância de vírus entéricos como agente causal de DTHA, além de apoiar políticas públicas relacionadas e servir de base para futuros estudos mais amplos sobre o tema.



**Palavras-chave:** Doenças de transmissão hídrica e alimentar. Vírus entéricos. Detecção viral. Reação em cadeia da polimerase.

## ABSTRACT

The presence of enteric viruses in food is a significant concern for the food industry and regulatory agencies. The issue is one of the food safety priorities in recent years. However, its food research in Brazil is still extremely neglected. Given this scenario, the present study aimed to carry out research on enteric viruses (Rotavirus, Norovirus GI/GII and Hepatitis A), by the reverse transcription technique in real-time RT-PCR Polymerase Chain Reaction, in the food samples involved in foodborne outbreaks in Minas Gerais, from January to July 2023. The analyses were carried out at the Minas Gerais Central Public Health Laboratory (LACEN/MG). During this period, 15 outbreaks were reported, involving 30 foods sent to LACEN/MG. After the presumptive analysis of the collective inquiry forms, food from only three outbreaks, all involving the consumption of ready meals, were targeted for viral detection, of which two were confirmed positive for rotavirus. Although the size and representativeness of the samples included in this study do not allow characterizing the incidence of enteric viruses in foods associated with outbreaks of waterborne and foodborne diseases (DTHA), the results obtained are relevant to reaffirm the importance of enteric viruses as a causal agent of DTHA, in addition to supporting related public policies and serving as a basis for future, broader studies on the topic.

**Keywords:** Waterborne and foodborne diseases. Enteric viruses. Viral detection. Polimerase chain reaction.

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) representam um grande desafio à saúde pública e mostram um crescimento significativo no Brasil e no mundo. Dependendo do contexto socioeconômico e do tipo de agente etiológico envolvido, as DTHA podem adquirir um caráter explosivo, com consequências significativas, tanto na saúde pública como na economia (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020; ARAGRANDE; CANALI, 2020). Observa-se que as graves complicações causadas geram altos custos com hospitalizações e prejuízos econômicos devido às ausências

nos postos de trabalho, fechamento de comércios e impacto nos locais identificados como pontos turísticos (HOFFMANN; SCALLAN, 2017).

Um estudo de Dhaliwal *et al.* (2021) avaliou as estimativas do custo das hospitalizações associadas aos agentes causais de DTHA nos Estados Unidos da América, utilizando dados da Pesquisa Nacional de Pacientes Internados, no período de janeiro de 2012 a setembro de 2015. A gravidade da DTHA associada ao tipo de patógeno envolvido influencia diretamente no tempo de internação. Portanto, essa associação foi considerada pelos autores, o principal fator de custo das hospitalizações. O custo médio de hospitalização dos patógenos incluído nesse estudo foi de US\$ 17.515, variando de US\$ 11.552 para *Campylobacter* a US\$ 34.206 para norovírus.

As DTHA manifestam-se por meio de diferentes mecanismos de ação. A intoxicação pela ingestão de toxinas produzidas por algum micro-organismo, como a toxina de *Staphylococcus*. A infecção resulta da ingestão de alimentos contendo patógenos, tais como *Salmonella*, vírus da hepatite A, rotavírus, norovírus, entre outros. Por fim, a toxinfecção se diferencia dos demais mecanismos, pois decorre da produção de toxinas durante a multiplicação dos patógenos no intestino humano (BRASIL, 2010; HEREDIA; GARCIA, 2018; KADARIYA; SMITH; THAPALIYA, 2014).

Mais de 250 tipos de DTHA foram registrados no mundo, ocasionadas principalmente por bactérias e suas toxinas, parasitas, vírus e substâncias químicas. Como consequência, os sintomas comuns incluem náuseas, vômitos, cólicas abdominais, febre, diarreia e falta de apetite. No entanto, em casos mais graves observa-se o desenvolvimento de complicações extraintestinais em diferentes órgãos, podendo levar o paciente a óbito. A intensidade dos sintomas é influenciada por diversos fatores, como o tipo de agente etiológico envolvido, dose infectante, condições de saúde do indivíduo afetado, dentre outros (BRASIL, 2010; HOFFMANN; SCALLAN, 2017).

Em muitos países inclusive no Brasil, um surto é um episódio em que duas ou mais pessoas apresentam doença semelhante após ingerirem alimentos e/ou águas da mesma origem notificada (BRASIL, 2010).

Observa-se que as pesquisas são, em sua maioria, direcionadas para identificação de bactérias, com pouca ênfase para outros grupos patogênicos. A priorização da pesquisa de bactérias ocorre, em parte, porque essas são os patógenos prevalentes nos surtos, mas, também por falta de diagnósticos que

demonstrem a real importância do vírus e dos outros patógenos (ALADHADH, 2023). Ainda assim, os vírus entéricos possuem relevância reconhecida como causadores de DTHA, mas ainda são negligenciados, devido a fatores como às dificuldades dos métodos de detecção e quantificação, falta de infraestrutura dos laboratórios de diagnóstico molecular, dentre outros (BRANDÃO, 2022; TRZAŃSKOWSKA; HUNT; RODRÍGUEZ-LÁZARO, 2022).

Segundo estimativas do Centro de Prevenção e Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC), no período abrangido entre 2012 e 2021, ocorreram 5.467 surtos de DTHA, uma média de 546 surtos/ano. Como efeito, 113.541 pessoas adoeceram 9.286 foram hospitalizadas e 228 indivíduos morreram, devido a agentes bacterianos ou virais ([www.cdc.gov/norsdasboard/](http://www.cdc.gov/norsdasboard/)). Segundo os dados divulgados, os agentes predominantes foram as bactérias, *Salmonella*, *Staphylococcus* e o norovírus (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022). Seguindo nesse cenário, em 2022, a European Food Safety Authority (EFSA) publicou os dados de 2021, da European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Nesse ano, no continente europeu, ocorreram 2.174 surtos de DTHA, que acometeram 22.381 pessoas, provocando 2.146 hospitalizações e 28 óbitos (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2022). A identificação dos agentes bacterianos e virais destacou a *Salmonella* e o norovírus, como os mais prevalentes, respectivamente (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2022) (<https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>). Partindo para o território nacional, segundo dados divulgados pelo Ministério da Saúde em 2023, no período compreendido entre 2013 e 2022, foram notificados, por ano, em média 652 surtos de DTHA, ocasionando 107.513 doentes, 12.722 hospitalizações e 112 óbitos. Na pesquisa para determinação dos agentes causais, *Salmonella* e *Staphylococcus* apareceram como os principais. Já dentre o grupo viral, identificou-se norovírus e rotavírus, ocupando a 5ª e a 6ª posição do ranking, com 6,2% e 4,6%, respectivamente (BRASIL, 2023b).

O rotavírus é responsável pela maioria dos casos de diarreia em crianças abaixo de cinco anos de idade, podendo afetar a população geral, principalmente em locais de grande vulnerabilidade (BRASIL, 2023a)

Fatores como a falta de vacinação, a variedade de mecanismos que afetam a geração de resposta imunológica e o surgimento de novos genótipos circulantes, podem favorecer o aparecimento de surtos.

Apesar da existência da vacina contra o rotavírus, dados de monitoramento nas regiões das Américas, Europa, Ásia e Oceania nos anos de 2017 e 2018, estimam que esse agente viral foi responsável por 208 mil mortes e 33% das internações, causando um impacto significativo na economia (COHEN *et al.*, 2022; OPERARIO *et al.*, 2017). Mesmo com a vacinação contra o rotavírus oferecendo uma proteção aceitável, é crucial ressaltar que o consumo de água potável e práticas de higiene continuam sendo estratégias fundamentais de prevenção (GUTIERREZ *et al.*, 2023; SAHA *et al.*, 2021).

Por outro lado, o Norovírus é o principal agente causador de gastroenterites em todas as faixas etárias. São considerados resistentes, pois as partículas virais podem permanecer infecciosas por duas semanas em superfícies ambientais. Os surtos ocorrem principalmente em ambientes fechados, como escolas, hospitais, cruzeiros, instituições de longa permanência para idosos e restaurantes. Apresenta uma alta taxa de mutação, o que permite o surgimento de novas variantes, cada vez mais resistentes. Em sua classificação são identificados 10 genogrupos e 49 genótipos. Os mais predominantes são GI.1 e GII.4, sendo o segundo, o responsável por implicações mais graves, como hospitalizações. Nenhuma vacina está disponível, mas a candidata HIL-214 passou na fase clínica 2b e se mostra promissora (CHHABRA *et al.*, 2019; LUCERO *et al.*, 2021; ROBILOTTI; DERESINSKI; PINSKY, 2015; WINDER; GOHAR; MUTHANA, 2022).

A hepatite A é uma infecção causada pelo vírus A da hepatite. É uma doença de caráter benigno, com rara letalidade, mas apresenta fator de risco em idosos. Já cerca de 70% das crianças são assintomáticas ou desenvolvem sintomas leves (O'SHEA *et al.*, 2019). Uma das fontes de transmissão é a ingestão de alimentos ou água contaminados. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a infecção acomete países com saneamento básico ineficiente e pouco acesso à higiene, atingindo assim, aproximadamente 1,5 milhão de pessoas a cada ano. Esses números poderiam ser mais elevados, haja vista que por ser assintomática, provavelmente a taxa de infecção é muito maior (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019b). À medida que as condições higiênicas sanitárias vão melhorando, menor é a incidência dessas doenças (YOON *et al.*, 2017). A principal medida de prevenção contra a hepatite A é a vacinação, altamente eficaz e segura (BRASIL, 2023a).

Truchado e Randazzo (2022) demonstram, com os resultados dos seus estudos, a importância da utilização de métodos moleculares específicos baseados

em *Polymerase Chain Reaction* – Reação em cadeia da polimerase (PCR), tais como: Endpoint PCR, Multiplex PCR e RT-PCR, etc, para se avançar no conhecimento atual de detecção e identificação dos diferentes agentes patogênicos de origem alimentar, que continuam a representar um risco significativo para a saúde pública.

Considerando o panorama apresentado e ao realizar uma análise retrospectiva dos surtos de doença de transmissão alimentar (DTA) ocorridos entre 2012 e 2022 no Estado de Minas Gerais, e analisado pelo Laboratório Central de Saúde Pública de Minas Gerais (LACEN/MG), evidenciaram-se lacunas na identificação dos agentes causais. Dos 376 surtos notificados durante esse período, apenas 45,2% tiveram seus agentes identificados.

Assim, o objetivo deste estudo foi introduzir pesquisa de agentes virais (rotavírus, norovírus GI/GII e vírus da hepatite A) nas amostras de alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos, com intuito de contribuir para a elucidação dos episódios ocorridos em Minas Gerais.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

Para introduzir a metodologia de pesquisa de agentes virais em alimentos envolvidos em surtos de toxinfecção alimentar ocorridos em Minas Gerais no período de janeiro a julho de 2023, foram realizadas análises de amostras envolvidas em 15 surtos. As amostras selecionadas foram submetidas tanto à pesquisa de patógenos bacterianos, quanto à análise dos agentes virais (vírus da hepatite A, norovírus GI/GII e rotavírus).

A metodologia adotada para a pesquisa dos agentes virais foi a de adsorção-eluição em membranas eletronegativas, descrita por Katayama, Shimasaki e Ohgaki (2002) e Symonds *et al.* (2014) com modificações. A análise seguiu as seguintes etapas: homogeneização em Stomacher de  $(25 \pm 0,1)$  g da amostra e 225 mL de água peptonada, pré-filtração qualitativa para remoção de particulados, concentração viral em membrana de nitrocelulose de 0,8  $\mu\text{m}$ , adição de cloreto de magnésio (2,5 M) na proporção de 1:100 da amostra, ajuste do pH entre 3 e 3,5 com ácido acético e posterior filtração em membrana de nitrocelulose de 0,45  $\mu\text{m}$ .

A partir dessa última membrana foi realizada a extração de ácidos nucleicos utilizando kit comercial SureFast PREP DNA/RNA Virus (Congen), conforme instruções do fabricante. Para a detecção de Norovirus GI/GII e Hepatite A, foi utilizado

kit comercial SureFast Norovirus/Hepatitis A 3plex (Congen), com todos os reagentes inclusos. Por fim, para a detecção de Rotavírus foi utilizado kit GoTaq 1-step RT-qPCR System (Promega), com iniciadores e sondas descritos por Logan, O’Leary e O’Sullivan (2006). As condições de amplificação estão descritas no quadro 1.

Quadro 1 - Condições de amplificação para RT-qPCR

<b>Alvo</b>	<b>Transcrição Reversa</b>	<b>Ativação da DNA Polimerase</b>	<b>Desnaturação / Anelamento e Extensão</b>
Hepatite A e Norovírus GI/GII	58°C por 10 minutos	95°C por 1 minuto	45 ciclos (95°C por 15 segundos e 60°C por 30 segundos)
Rotavírus	45°C por 15 minutos	95°C por 2 minutos	45 ciclos (95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.)

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

### 3 RESULTADOS

Durante o primeiro semestre de 2023, o LACEN/MG recebeu 30 amostras envolvidas em 15 surtos de DTA. Do total de surtos, três foram selecionadas com base em critérios específicos que indicavam vírus entéricos como possíveis agentes causais. Os três surtos serão descritos a seguir de forma resumida.

Em março, o primeiro surto notificado ocorreu no lar de idosos envolvendo 36 indivíduos, na faixa etária de 60 a 88 anos. Com período de incubação de 2 a 4 dias, os principais sintomas reportados foram febre, náusea, vômito, cólica e diarreia, sendo os dois últimos os mais prevalentes.

Em abril, foi registrado o segundo surto ocorrido em uma unidade de pronto atendimento, envolvendo 13 pessoas que apresentaram cólicas e diarreia, como sintomas predominantes com um período de incubação de 7 a 17 horas.

Em maio, ocorreu o terceiro surto em uma creche, envolvendo 6 crianças entre 0 e 3 anos de idade, o período de incubação foi de aproximadamente 17 horas, tendo como sintoma predominante a diarreia. Em todos os surtos o alimento envolvido foi refeição pronta.

A Tabela 1 apresenta as informações detalhadas dos surtos avaliados e os resultados encontrados.

Tabela 1 - Resultados da pesquisa de agentes virais em alimentos envolvidos em surtos de DTA ocorridos em Minas Gerais entre janeiro e julho de 2023

Local de ocorrência	Nº de pessoas envolvidas	Nº de pessoas hospitalizadas	Alimento consumido	Período de incubação	Sinais / Sintomas	Agente Viral
Lar de idosos	36	02	Refeição pronta	2 a 4 dias	Febre, náuseas, vômitos, cólica e diarreia	Rotavírus
Pronto atendimento	13	00	Refeição pronta	7 a 17 horas	Cólica e diarreia	Não detectado
Creche	06	00	Refeição pronta	17 horas	Diarreia	Rotavírus

Agentes virais pesquisados: vírus da hepatite A, norovírus GI/GII e rotavírus  
 Fonte: Elaborado pela autora (2023).

#### 4 DISCUSSÃO

A detecção de vírus em alimentos é um desafio maior do que as bactérias, uma vez que não se replicam fora do hospedeiro, mas se mantêm estáveis no ambiente. As cargas virais presentes em amostras de alimentos são normalmente muito mais baixas que as encontradas em amostras clínicas (Schaffner e Miranda, 2019). No entanto, no estudo realizado, apesar das limitações identificadas em relação a metodologia, o tamanho amostral reduzido e a complexidade da matriz analisada, o laboratório obteve resultados positivos para a presença de rotavírus nos alimentos associados aos surtos, indicando uma provável alta carga viral. É crucial permanecermos atentos, uma vez que uma das armadilhas do uso de métodos moleculares na análise é a incapacidade de distinguir entre vírus infecciosos e não infecciosos (BOSCH *et al.*, 2018). O resultado encontrado demonstra a importância do diagnóstico viral associado aos casos de surtos envolvendo alimentos e que os métodos precisam ser aprimorados para diferentes tipos de alimentos.

Observa-se que os resultados positivos para RAV, envolveram idosos e crianças abaixo de cinco anos, ambos classificados como grupos de risco altamente susceptíveis às doenças diarreicas agudas (DDA), provavelmente devido à imunossenescência e desidratação aguda (COHEN *et al.*, 2022; WINDER *et al.*, 2022). Esse agente continua sendo a principal causa de diarreia, ocasionando geralmente hospitalização, principalmente em países de baixa e média renda (COHEN *et al.*, 2022).

No estudo de Silva, Chaoubah e Campos (2023) em Minas Gerais, nos anos de 2009 e 2014 ocorreram 1.144.296 e 1.244.358 internações, respectivamente. Os pesquisadores reforçaram que as crianças e idosos, foram os mais vulneráveis e responsáveis pela maioria das internações nossos resultados corroboram com a afirmação dos autores uma vez que internações foram registradas no surto ocorrido no lar de idosos. Na creche, pode ser que não houve agravamento dos sintomas que pudesse resultar em hospitalização, caso essas crianças tenham sido vacinadas, pois no calendário nacional do Brasil a vacina de rotavírus consta para esse grupo etário.

Quanto à metodologia não há atualmente, um único método internacionalmente validado que seja adequado para qualquer tipo de alimento A norma ISO/TS 15216:2017 é uma normatização internacional utilizada como referência para a detecção de vírus (hepatite A e norovírus) em alimentos, como mariscos, frutos vermelhos, produtos frescos e águas engarrafadas. Para pesquisa de vírus em outros alimentos ou outros vírus diferentes do especificado na norma é importante o desenvolvimento de estudos para padronizar e validar o método descrito (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2017). O método adaptado realizado no estudo identificou que o alimento envolvido nos eventos foi a refeição pronta que apesar de ser uma matriz complexa devido a presença de lipídios, proteínas, carboidratos o agente viral rotavírus foi detectado e pode ter sido a fonte causal. Essa categoria de alimento é susceptível à contaminação, por serem altamente manipulados, ou seja, é uma fonte de risco que aumenta a transmissão caso as medidas de higiene não sejam adotadas. Quanto ao surto selecionado neste estudo que não teve o agente viral detectado pode ser decorrente da complexidade da matriz alimentar, distribuição não homogênea do agente na amostra analisada ou devido à baixa carga viral presente (ALADHADH, 2023) ou mesmo, pode-se sugerir a presença de outro agente etiológico não investigado.



Este é o primeiro estudo realizado pelo LACEN/MG, então é importante destacar que é necessário o desenvolvimento de mais estudos para padronizar e validar o método utilizado o que corrobora com a orientação estabelecida na norma ISO 15216-1:2017 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2017) em que uma validação adequada segue com o uso de conjuntos de primers e sondas dirigidas a alvos específicos.

É importante destacar que a investigação em alimentos se torna, a cada dia, uma exigência no âmbito da saúde pública, pois o número de surtos de origem alimentar está em crescimento em todo o mundo. Cabe ressaltar que no Brasil não existe uma legislação que estabeleça critérios para a segurança alimentar em relação à presença de vírus em alimentos, como o que existe em relação às bactérias, conforme a Resolução da Diretoria Colegiada Nº 724, de 1º de julho de 2022 que dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação (BRASIL, 2022).

O resultado encontrado demonstra que apesar dos desafios para a detecção de vírus transmitidos por alimentos, o diagnóstico viral é relevante para a elucidação dos surtos e não pode ser negligenciado.

## 5 CONCLUSÃO

A pesquisa de agentes virais em alimentos associados a surtos de toxinfecções alimentares emergiu como uma estratégia laboratorial promissora, destacando a importância de continuar e aprimorar esses estudos. Isso se deve à relevância crucial de elucidar surtos e à necessidade premente de investimentos adicionais nos laboratórios públicos, visando fortalecer sua capacidade de análise e detecção de patógenos alimentares.

## REFERÊNCIAS

ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. **Journal of Tropical Medicine**, Cairo, Egypt, p. 4674235, 29 jun. 2020.

ALADHADH, M. A review of modern methods for the detection of foodborne pathogens. **Microorganisms**, Basel, Switzerland, v. 11, n. 5, p. 1111, Apr. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Perfil analítico da Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Sanitária**: RNLVISA. Brasília:

ANVISA, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/anvisa-divulga-perfil-analitico-de-laboratorios-da-rede>. Acesso em: 7 jan. 2024.

ARAGRANDE, M.; CANALI, M. Integrating epidemiological and economic models to identify the cost of foodborne diseases. **Experimental Parasitology**, New York, v. 210, p. 107832, Mar. 2020.

BOSCH, A. *et al.* Foodborne viruses: detection, risk assessment, and control options in food processing. **International Journal of Microbiology**, Cairo, Egypt, v. 285, p. 110-128, Nov. 2018.

BRANDÃO, M. L. L. Pesquisa em vigilância sanitária: uma abordagem na área de microbiologia de alimentos. **Vigilância Sanitária em Debate**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 10-19, nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 724, de 1º de julho de 2022**. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. Brasília: Ministério da Saúde; ANVISA, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle por doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta/manual-integrado-de-vigilancia-prevencao-e-controle-de-doencas-transmitidas-por-alimentos/view>. Acesso em: 20 fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil: informe 2023**. Brasília: Ministério da Saúde, 2023b. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2023>. Acesso em: 30 set. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Guia de vigilância em saúde**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2023a. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_6ed\\_v1.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_6ed_v1.pdf). Acesso em: 18 dez. 2023.

CHHABRA, P. *et al.* Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. **The Journal of General Virology**, London, v. 100, n. 10, p. 1393-1406, Oct. 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **National outbreak reporting system (NORS)**. Atlanta: CDC, 2022. Disponível em: <https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/>. Acesso em: 30 de dezembro de 2023.

COHEN, A. L. *et al.* Aetiology and incidence of diarrhoea requiring hospitalisation in children under 5 years of age in 28 low-income and middle-income countries: findings

from the Global Pediatric Diarrhea Surveillance network. **BMJ Global Health**, London, v. 7, n. 9, p. e009548, Sep. 2022.

DHALIWAL, S. *et al.* Cost of Hospitalizations for Leading Foodborne Pathogens in the United States: Identification by International Classification of Disease Coding and Variation by Pathogen. **Foodborne Pathogens Disease**, USA, v. 18, n. 11, p. 812-821, Oct. 2021

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. **Dashboard on foodborne outbreaks**. Parma, Italy: EFSA, 2022. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>. Acesso em: 25 jan. 2024.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union one health 2021 zoonoses report. **EFSA Journal**, Parma, Italy, v. 20, n. 12, p. e7666, 2022.

GUTIERREZ, M. B. *et al.* Rotavirus A during the COVID-19 Pandemic in Brazil, 2020–2022: emergence of G6P[8] genotype. **Viruses**, Basel, Switzerland, v. 15, n. 8, p. 1619, Aug. 2023.

HEREDIA N.; GARCIA, S. Animals as sources of food-borne pathogens: a review. **Animal Nutrition**, Beijing, China, v. 4, n. 3, p. 250-255, Sep. 2018.

HOFFMANN, S.; SCALLAN, E. Epidemiology, cost, and risk analysis of foodborne disease. In: DODD, C. E. R. *et al.* (ed.). **Foodborne diseases**. 3. ed. Cambridge, MA: Elsevier, 2017.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/TS 15216-1:2017**. Microbiology of the food chain: horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR. Geneva: ISO, 2017.

KADARIYA, J.; SMITH, T. C.; THAPALIYA, D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. **BioMed Research International**, New York, v. 2014, p. 827965, 2014.

KATAYAMA, H.; SHIMASAKI, A.; OHGAKI, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 3, p. 1033–1039, Mar. 2002.

LOGAN, C.; O'LEARY, J. J.; O'SULLIVAN, N. Real-time reverse transcription-PCR for detection of rotavirus and adenovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis in children. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 44, n. 9, p. 3189-3195, Sep. 2006.

LUCERO, Y. *et al.* Norovirus: Facts and Reflections from Past, Present, and Future. **Viruses**, Basel, Switzerland, v. 13, n. 12, p. 2399, Nov. 2021.

OPERARIO, D. J. *et al.* Etiology of severe acute watery diarrhea in children in the global rotavirus surveillance network using quantitative polymerase chain reaction. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 216, n. 2, p. 220-227, Jul. 2017.

O'SHEA, H. *et al.* Viruses associated with foodborne infections. **Reference Module in Life Sciences**, [s. l.], 2019.

ROBILOTTI, E.; DERESINSKI, S.; PINSKY, B. A. Norovirus. **Clinical Microbiology Reviews**, [Washington, DC], v. 28, n. 1, p. 134-164, Jan. 2015.

SAHA, D. *et al.* Rotavirus vaccines performance: dynamic interdependence of host, pathogen and environment. **Expert Review of Vaccines**, London, v. 20, n. 8, p. 945-957, Aug. 2021.

SILVA, L. F.; CHAOUBAH, A.; CAMPOS, E. M. S. Internações por condições sensíveis à atenção primária: prevalência e gastos no estado de Minas Gerais. **Cadernos Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. e31020176, 2023.

SYMONDS, E. M. *et al.* A case study of enteric virus removal and insights into the associated risk of water reuse for two wastewater treatment pond systems in Bolivia. **Water Research**, Oxford, v. 65, p. 257-270, Nov. 2014.

TRUCHADO, P.; RANDAZZO, W. New challenges for detection and control of foodborne pathogens: from tools to people. **Foods**, Basel, Switzerland, v. 11, n. 12, p. 1788, Jun. 2022.

TRZĄSKOWSKA, M.; HUNT, K.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D. Risk assessment of enteric viruses along the food chain and in the population. **EFSA Journal**, Parma, Italy, v. 20, suppl. 2, p. e200918, Dec. 2022.

YOON, E. L. *et al.* Current status and strategies for the control of viral hepatitis A in Korea. **Clinical and Molecular Hepatology**, Seoul, Korea, v. 23, n. 3, p. 196-204, Sep. 2017.

WINDER, N.; GOHAR, S.; MUTHANA, M. Norovirus: an overview of virology and preventative measures. **Viruses**, Basel, Switzerland, v. 14, n. 12, p. 2811, Dec. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Safer water, better health**. Geneva: World Health Organization, 2019. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/329905/9789241516891-eng.pdf?sequence=1>. Acesso em: 18 dez 2023.

## 5.2 ARTIGO 2

### MONITORAMENTO DE PERIGOS BACTERIANOS E VIRAIS EM ÁGUA DE CONSUMO NAS ALDEIAS INDÍGENAS MAXAKALI NO BRASIL REVELA BAIXA POTABILIDADE, PRESENÇA DE SALMONELLA E ALTO RISCO DE DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA

### MONITORING OF BACTERIAL AND VIRAL HAZARDS IN CONSUMPTION WATER IN MAXAKALI INDIGENOUS VILLAGES IN BRAZIL REVEALS LOW DRINKABILITY, PRESENCE OF SALMONELLA AND HIGH RISK OF WATER-BORNE DISEASES

#### RESUMO

As comunidades Maxakali estão constantemente expostas a episódios das doenças diarreicas agudas (DDA). Segundo dados do Distrito Especial da Saúde Indígena, em julho de 2023, a comunidade Maxakali contava com 2.574 indivíduos distribuídos em 29 aldeias localizadas em quatro municípios mineiros. As DDA são causadas principalmente por bactérias e vírus e podem ser evitadas pela adoção de saneamento básico, mas nas aldeias Maxakali o descarte de dejetos ocorre em fossas negras e sumidouros e não têm acesso à água potável. Diante deste cenário o objetivo deste trabalho foi caracterizar o potencial risco de ocorrência de surtos de DDA causada pela água *in natura* consumida pela população indígena. A avaliação da qualidade da água foi realizada por meio de um monitoramento em sete aldeias entre os meses de março e agosto de 2023. Os parâmetros avaliados foram potabilidade, pesquisa de enteropatógenos em especial *Salmonella*, e a introdução da pesquisa de agentes virais (norovírus GI/GII, rotavírus, adenovírus e hepatite A). A análise dos resultados das amostras de água revelou que todas as aldeias apresentam elevado risco de ocorrência de surtos de DDA, por não atenderem ao padrão de potabilidade (presença de *E. coli*), e pela presença de enteropatógenos (*Salmonella entérica* spp *enterica* e *Aeromonas hydrophila*), e de patógenos oportunistas (*Pseudomonas aeruginosa*) em 57% das aldeias avaliadas, embora os agentes virais pesquisados não foram detectados. O monitoramento situacional proporcionou a adoção de medidas de intervenção em três aldeias selecionadas, promovendo uma redução significativa da

contagem de coliformes e ausência de detecção de enteropatógenos antes identificados. Ao avaliar a tendência das médias das contagens de coliformes totais nas amostras de água ao longo dos meses entre grupos de comunidades indígenas submetidas ou não à intervenção corretiva, observou-se uma interação significativa entre o tempo e a intervenção ( $p = 0,03$ ). No grupo com intervenção, houve uma tendência geral de queda nas contagens, culminando em agosto. Em contraste, no grupo sem intervenção, há uma tendência geral de aumento nas contagens, atingindo o ápice em julho. Isto evidencia a importância das ações corretivas e do monitoramento contínuo da qualidade da água, enfatizando a necessidade de estratégias preventivas, as quais são cruciais para manter a saúde da população em questão. Estes resultados servem para apoiar políticas públicas relacionadas e de base para futuros estudos de monitoramento prospectivos ainda mais amplos.

**Palavras-chave:** Maxakali. Água de consumo. Vírus entéricos. *Salmonella*. Doença diarreica aguda.

### ABSTRACT

The Maxakali communities are constantly exposed to episodes of acute diarrheal diseases (ADD). According to data from the Special Indigenous Health District, in July 2023, the Maxakali community had 2,574 individuals distributed across 29 villages located in four municipalities in Minas Gerais. ADD are mainly caused by bacteria and viruses and can be avoided by adopting basic sanitation, but in Maxakali villages waste disposal occurs in black pits and sinkholes and there is no access to drinking water. Given this scenario, the objective of this work was to characterize the potential risk of outbreaks of acute diarrheal diseases caused by fresh water consumed by the indigenous population. The assessment of water quality was carried out through monitoring in seven villages between the months of March and August 2023. The parameters evaluated were potability, research on enteropathogens, especially *Salmonella*, and the introduction of research on viral agents (norovirus GI /GII, rotavirus, adenovirus and hepatitis A). The analysis of the results of the water samples revealed that all villages present a high risk of ADD outbreaks, as they do not meet the potability standard (presence of *E. coli*), and the presence of enteropathogens (*Salmonella enterica* spp *enterica* and *Aeromonas hydrophila*), and opportunistic

pathogen (*Pseudomonas aeruginosa*) in 57% of the villages evaluated, although the viral agents investigated were not detected. Monitoring led to the adoption of intervention measures in three selected villages promoting a significant reduction in coliform counts and the absence of detection of previously identified enteropathogens. When evaluating the trend in total coliform counts in water samples over the months between groups of indigenous communities submitted or not to corrective intervention, a significant interaction was observed between time and intervention ( $p= 0, 03$ ). In the intervention group, there was a general downward trend in counts, culminating in August. In contrast, in the non-intervention group, there is a general upward trend in counts, peaking in July. This highlights the importance of corrective actions and continuous monitoring of water quality, emphasizing the need for preventive strategies, which are crucial to maintaining the health of the population in question. These results serve to support related public policies and provide a basis for future, even broader, prospective monitoring studies.

**Keywords:** Maxakali. Drinking water. Enteric viroses. *Salmonella*. Acute diarrheal disease.

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças diarreicas agudas (DDA) são comumente chamadas de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), responsáveis anualmente por aproximadamente 829 mil mortes, e causadas por diferentes agentes etiológicos como bactérias, vírus e parasitas intestinais oportunistas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009). Os agentes bacterianos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* enteropatogênica, enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*, e os vírus rotavírus, norovírus e adenovírus são os mais frequentemente-relacionados (BRASIL, 2023a).

Inúmeras pesquisas apontam que as doenças de veiculação hídrica podem ser evitadas e os seus efeitos adversos mitigados, por meio de investimento em infraestrutura de saneamento e acesso a água potável. Estas doenças são responsáveis por inúmeros óbitos em todo o mundo e a perda de condições de saúde afeta especialmente os grupos etários mais vulneráveis e as regiões mais pobres (PAIVA; SOUZA, 2018). O estudo de Ferreira *et al.* (2021) concluiu que pequenos

investimentos nessas duas infraestruturas reduziriam significativamente o impacto com hospitalizações.

Com relação às DDA em populações vulneráveis, é necessária uma maior atenção para os povos indígenas. Em Minas Gerais, a comunidade indígena Maxakali faz uso de água *in natura*, sem nenhum tratamento prévio, como filtração e cloração, e a avaliação da qualidade de suas águas se limita a critérios de palatabilidade e visuais, sendo estes insuficientes para garantir o padrão necessário para prevenir riscos microbiológicos à saúde (ASSIS *et al.*, 2020). É importante destacar que o monitoramento da qualidade da água é uma das estratégias adotadas pelo Distrito Sanitário Especial Indígena de Minas Gerais e Espírito Santo (DSEI/MG-ES) como um instrumento de verificação da potabilidade, cujos parâmetros estabelecidos são pesquisa de coliformes totais e de *Escherichia coli* (BRASIL, 2021). No entanto, para uma avaliação mais abrangente dos riscos associados à qualidade da água, bem como para explorar soluções alternativas de abastecimento que tenham impacto direto na saúde indígena, é imprescindível considerar análises adicionais de alta complexidade (BRASIL, 2014).

No contexto do levantamento retrospectivo do perfil clínico-epidemiológico dos surtos de doenças de transmissão hídrica ocorridos entre 2012 e 2022 em Minas Gerais, dos surtos notificados durante esse período, apenas 36% tiveram seus agentes etiológicos identificados. Esses dados sugerem uma possível presença de agentes não investigados, como microrganismos emergentes, vírus e protozoários. Diante desse cenário verifica-se a necessidade da implantação de novos métodos de investigação e capazes de identificar os agentes responsáveis por surtos de veiculação hídrica.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar o potencial risco de ocorrência de doenças diarreicas agudas veiculadas pelo consumo de água *in natura* nas aldeias indígenas Maxakali.

A qualidade da água foi avaliada por meio da análise do padrão de potabilidade (coliformes totais / *E. coli*) e pela pesquisa de microrganismos com potencial patogênico. Tais informações são importantes para o fortalecimento das ações de monitoramento da qualidade da água e melhoria da capacidade de resposta diante de possíveis surtos relacionados entre a população indígena.



## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Área e população de estudo

O estudo foi realizado nas terras indígenas Maxakali, localizadas na região nordeste do estado de Minas Gerais. O território é dividido em quatro polos base, sendo que este estudo foi realizado em apenas dois deles, por apresentar maior número de indivíduos e maior extensão territorial, aproximadamente 5305 hectares. Conforme os dados do DSEI/MG-ES, atualizados em julho de 2023, a população indígena Maxakali é de aproximadamente 2.574 indivíduos.

As aldeias foram selecionadas conforme a disponibilidade de acesso e os polos selecionados foram polo base Água Boa do município Santa Helena de Minas, com 992 indivíduos, compreendendo 13 aldeias, e polo base Pradinho, município de Bertópolis, com 1025 indivíduos, compreendendo 08 aldeias, que fazem divisa com os estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Bahia.

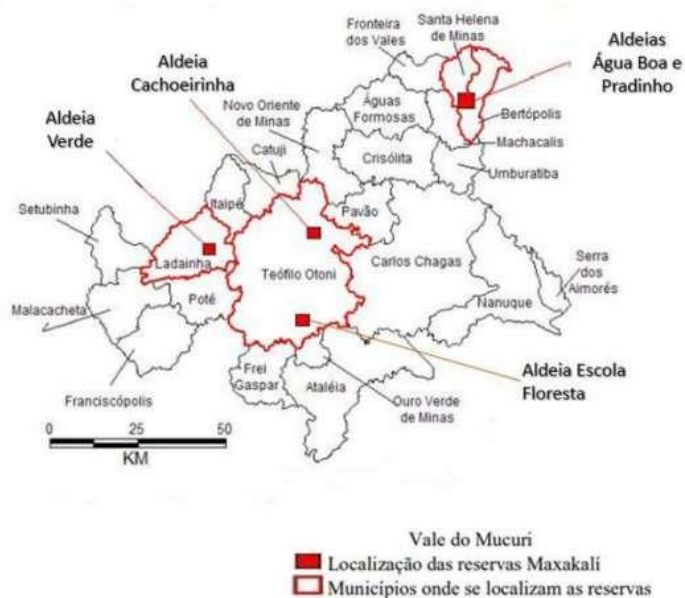
No polo base Água Boa, foram avaliadas as águas das aldeias ãmãxux/Tarcílio (87 indivíduos), Joviel (18 indivíduos) e Kokiti (34 indivíduos). Por outro lado, no polo base Pradinho, participaram das análises de água as aldeias Cachoeira (13 indivíduos), Maravilha (219 indivíduos), Novila (132 indivíduos) e Vila Nova (40 indivíduos).

Quadro 1 - Localização e População das Aldeias nos Polos Base

POLO BASE	ALDEIA	POPULAÇÃO
Polo Base Água Boa Município Santa Helena	ãmãxux/Tarcílio	87
	Joviel	18
	Kokiti	34
Polo Base Pradinho Município Bertópolis	Maravilha	219
	Vila Nova	40
	Novila	132
	Cachoeira	13

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 1 - Localização geográfica das aldeias Maxakali, Minas Gerais – Brasil



Fonte: (MACHACALIS, 2023).

## 2.2 Coleta das amostras de água

O monitoramento da qualidade da água *in natura* dos poços foi realizado mensalmente, no período de março a agosto de 2023, em sete pontos, um por aldeia, mapeados como fontes para consumo humano, totalizando 43 amostras de água selecionadas conforme a disponibilidade de acesso. As coletas foram realizadas pela equipe do DSEI/MG-ES conforme o procedimento recomendado pelo Manual do Ministério da Saúde. Dois frascos de polipropileno com capacidade para 1000 mL foram utilizados na coleta de cada ponto. Após a identificação, foram armazenados em caixas isotérmicas e encaminhados, sob-refrigeração (2 a 8 °C) para o

LACEN/MG, de tal modo que não excedesse 24 horas entre a coleta e o início das análises.

## **2.3 Análise da água**

### **2.3.1 Potabilidade**

Para o teste de potabilidade, foi realizada a pesquisa de coliformes totais e *E. coli*, pelo método do substrato cromogênico/enzimático, seguindo uma metodologia aprovada pela Environmental Protection Agency (EPA) dos Estados Unidos. Uma alíquota de 100 mL de cada amostra foi transferida para frascos estéreis e, em seguida, adicionada o substrato cromogênico. Após a completa dissolução, os frascos foram incubados a 35 °C por 24 horas. A presença de coliformes totais foi evidenciada pela metabolização do substrato Orto-nitrofenil beta-D-galactopiranosídeo (ONPG) pela enzima  $\beta$ -galactosidase, resultando no surgimento de coloração amarela. A presença de *E.coli*, por sua vez, foi evidenciada pela metabolização do substrato 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (MUG) pela enzima  $\beta$ -glucuronidase, resultando no surgimento de fluorescência quando exposta à luz ultravioleta. O resultado foi expresso como presença/ausência em 100 mL da amostra, conforme preconizado pela Portaria nº 888 GM/MS/2021 (BRASIL, 2021).

### **2.3.2 Quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli* (Técnica de Número Mais Provável - NMP/ 100 mL)**

Para o processo de quantificação foi seguido uma metodologia aprovada pela EPA dos Estados Unidos com quatro etapas, sendo a 1ª etapa, a adição do reagente (substrato cromogênico) à amostra. O substrato cromogênico foi cuidadosamente introduzido na amostra, marcando o início do processo de detecção. A 2ª etapa, em que a amostra enriquecida com o reagente, foi transferida para a cartela do sistema quanti-tray 2000, cujas cavidades permitem contagens específicas na faixa de 1 a 2.419. A 3ª etapa consistiu na vedação e incubação. A cartela foi hermeticamente vedada utilizando a seladora quanti-tray. Em seguida, foi incubada a uma temperatura de (35°C  $\pm$  0,5°C) ao longo de um período de 24 horas. Por último, a 4ª etapa foi finalizada com a leitura dos resultados. Nesta fase, os resultados foram

minuciosamente avaliados, realizando a contagem de poços positivos. Os poços com coloração amarela indicam a presença de coliformes totais, enquanto poços de cor amarela-fluorescentes sinaliza a presença de *Escherichia coli*. Posteriormente, a análise foi complementada com a consulta à tabela de Número Mais Provável (NMP/100 mL).

### **2.3.3 Pesquisa de *Salmonella* spp.**

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada pelo método de filtração em membrana. Na etapa de pré-enriquecimento, as membranas obtidas após a filtração foram transferidas para frascos estéreis contendo 200 mL de caldo lactosado simples (CLS) e em seguida incubados por 18-24 horas a 35-37 °C.

Para a etapa de enriquecimento seletivo, após o período incubação em CLS, uma alíquota de 1,0 mL do CLS foi transferida para 10 mL de caldo Tetracionato (TT) (Difco®, Kansas, EUA), previamente acrescido de 0,2 mL de solução de iodo. Paralelamente, uma alíquota de 0,1 mL de CLS foi transferida para um tubo contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV). Ambos, TT e RV foram preparados conforme as instruções do fabricante. Os tubos de TT foram incubados por 24 horas, a 35-37 °C e, o tubo de RV, a 42°C por igual período. Uma alçada dos meios TT e RV foi estriada na superfície de placas contendo ágar xilose lisina desoxicolato (XLD), ágar hektoen entérico (Acumedia®, Canadá, EUA) e ágar *Salmonella*-*Shigella* (SS), todas incubadas por 18-24 horas, a 35-37 °C.

As colônias típicas de *Salmonella* (lactose negativa, com ou sem H<sub>2</sub>S) foram repicadas em tubos contendo o meio tríplice açúcar ferro (TSI) e lisina-ferro (LIA) e incubadas por 24 horas. Os tubos de TSI e LIA que apresentavam perfil bioquímico característico de *Salmonella* foram repicados em tubos de ágar Citrato-Simmons, incubados por 24 horas, a 35-37 °C. Para obtenção do perfil bioquímico das cepas de *Salmonella* spp. isoladas (citrato positivo) utilizou-se o cartão de identificação de gram-negativo no sistema automatizado (VITEK® 2 Gram-negative - GN, Biomerieux). A confirmação da identificação microbiana foi realizada pela avançada técnica de espectrometria de massas do tipo MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry).

### **2.3.4 Pesquisa de bactérias não fermentadoras**

Durante o isolamento seletivo de *Salmonella* spp, as bactérias não fermentadoras de lactose, como *Aeromonas hydrofila* e *Pseudomonas aeruginosa*, também foram identificadas por meio da triagem bioquímica e pelo sistema automatizado Vitek ®.

### **2.3.5 Pesquisa de vírus entéricos**

As amostras de água *in natura* foram submetidas à detecção viral de Hepatite A, norovírus GI/GII e rotavírus. A metodologia empregada foi a adsorção-eluição em membranas eletronegativas descrita por Katayama, Shimasaki e Ohgaki (2002) e Symonds *et al.* (2014) com modificações. Consistiu na homogeneização da amostra (2 litros) por inversão, pré-filtração qualitativa para remoção de sujidades, concentração viral em membrana de nitrocelulose de 0,8 µm, adição de cloreto de magnésio (2,5 M) na proporção de 1:100 da amostra, ajuste do pH entre 3 e 3,5 com ácido acético e posterior filtração em membrana de nitrocelulose de 0,45 µm.

A partir dessa última membrana, foi realizada a extração do ácido nucléico pelo kit comercial AllPrep PowerViral DNA/RNA (Qiagen) seguindo o protocolo do mesmo. A detecção dos vírus foi realizada por RT-qPCR segundo o protocolo SureFast Norovirus/Hepatitis A 3plex (Congen) e kit GoTaq 1-step RT-qPCR System (Promega).

Os iniciadores e sondas para a detecção dos vírus da hepatite A e norovírus GI/GII foram os incluídos no kit e, para a detecção de Rotavírus, utilizaram-se os iniciadores e sondas descritos por Logan, O'Leary e O'Sullivan (2006). As condições de amplificação estão descritas no quadro 2.

Quadro 2 - Condições de amplificação para RT-qPCR

<b>Alvo</b>	<b>Transcrição Reversa</b>	<b>Ativação da DNA Polimerase</b>	<b>Desnaturação / Anelamento e Extensão</b>
Hepatite A e Norovírus GI/GII	58°C por 10 minutos	95°C por 1 minuto	45 ciclos (95°C por 15 segundos e 60°C por 30 segundos)
Rotavírus	45°C por 15 minutos	95°C por 2 minutos	45 ciclos (95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

### **2.3.6 Intervenção em três aldeias**

Uma intervenção baseada em limpeza foi realizada nos pontos de coleta das comunidades Tarcílio, Joviel e Maravilha. Estas aldeias foram selecionadas devido ao fato de apresentarem valor aumentado na contagem de coliformes totais/*E.coli* e na detecção de microrganismo nas amostras coletadas nos meses de março, abril e maio.

### **2.3.7 Acompanhamento prospectivo das aldeias com e sem intervenção**

Das 7 aldeias participantes desse estudo, 6 aldeias foram acompanhadas durante os meses de maio, junho, julho e agosto como alvo de um acompanhamento prospectivo para acompanhar as tendências das contagens de coliformes totais. No mês de maio 3 dessas aldeias (Tarcílio, Joviel e Maravilha) foram submetidas à intervenção e as outras 3 aldeias (Vila Nova, Novila e Cachoeira), por não terem sofrido nenhuma intervenção foram utilizadas como controle do estudo.

### **2.3.8 Análises estatísticas**

Uma análise descritiva das espécies de patógenos e contagens de coliformes totais por local e mês de coleta das amostras de água foi realizada. A média da diferença das contagens de coliformes totais (NMP/100 mL) pareadas por três locais de coletas das amostras de água, (aldeias Tarcílio, Joviel e Maravilha), antes (maio)

e após a intervenção corretiva (recoleta realizada ainda no mês de maio), foi avaliada. Para esta análise utilizou-se o teste t de Student para amostras em pares.

As contagens de coliformes totais (NMP/100 mL) foram transformadas por Log10 e comparadas ao longo dos meses, por grupo quanto à intervenção, para avaliar os possíveis efeitos dos fatores meses, intervenção e se houve interação entre os dois fatores. As médias foram comparadas por ANOVA, utilizando-se como testes complementares o t de Student.

Os softwares estatísticos usados nas análises foram: Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (version 21, IBM Corporation, New York, USA) e R (version 4.1.2, R Core Team, Vienna, AU).

### 3 RESULTADOS

Os resultados desta pesquisa revelaram a presença de coliformes totais em todas as amostras (100%), enquanto *E. coli* foi identificado em 86% das amostras, em ambos os polos avaliados. Na pesquisa de agentes bacterianos, foram identificados *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila*. A confirmação da presença de *Salmonella enterica* subesp. *enterica* foi obtida por meio do sistema automatizado Maldi-Tof, com escores de identificação atingindo 99,9%.

Além disso, a constatação da presença dos micro-organismos oportunistas *Pseudomonas aeruginosa* nas amostras de água coletadas em ambos os polos base avaliados e *Aeromonas hydrophila* nas amostras do polo base Água Boa, conforme destacado na Tabela 1, foram confirmadas pelo sistema Vitek.



Tabela 1 - Resultado avaliação da qualidade microbiológica para o grupo coliforme, pesquisa de agentes bacterianos e pesquisa de vírus entéricos das águas *in natura* das aldeias Maxacali - MG, no período de março a agosto de 2023

<b>Polo Base Pradinho – Bertópolis</b>	<b>Aldeia</b>	<b>Grupo Coliforme</b>	<b>Pesquisa de agentes bacterianos</b>	<b>Pesquisa de vírus entéricos</b>
	Cachoeira	Presença de coliformes totais e <i>E.coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Não detectado
	Vila Nova	Presença de coliformes totais e <i>E.coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Não detectado
	Novila - Manoel Damásio	Presença de coliformes totais e <i>E.coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Não detectado
	Maravilha	Presença de coliformes totais e <i>E.coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i>	Não detectado
<b>Polo Base Água Boa -</b>	Ãmâxux – Tarcílio	Presença de coliformes totais	<i>P. aeruginosa</i>	Não detectado
<b>Santa Helena de Minas</b>	Joviel	Presença de coliformes totais e <i>E.coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> <i>A. hydrophila</i>	Não detectado
	Kokiti	Presença de coliformes totais e <i>E.coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i>	Não detectado

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

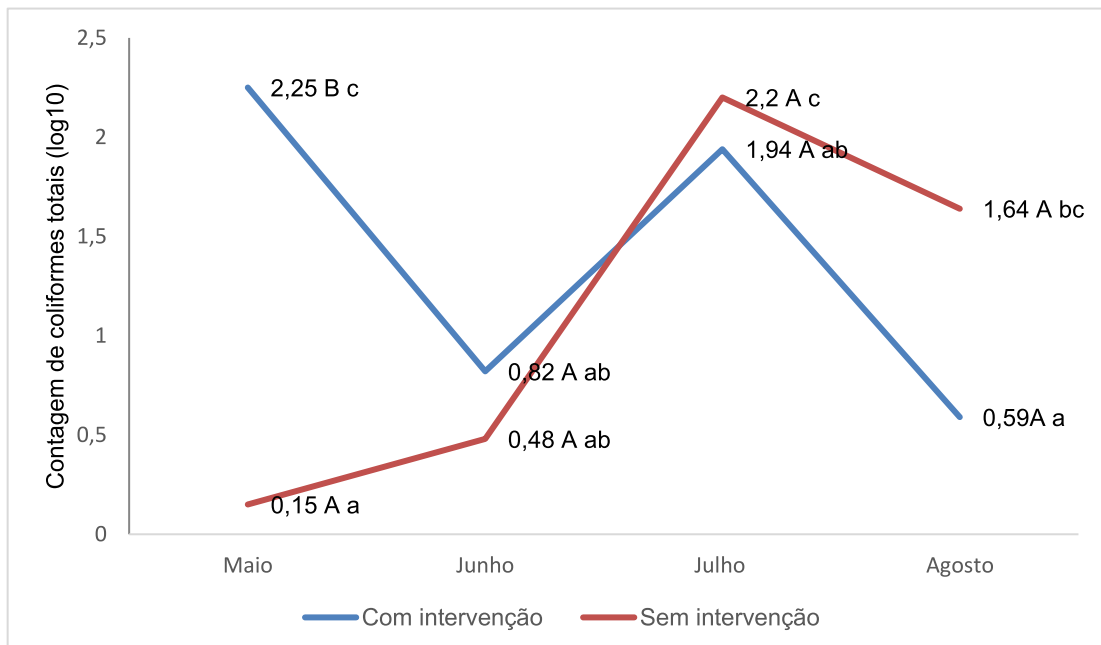
Quanto ao parâmetro de contagem de coliformes totais, observou-se que dentre as aldeias participantes do estudo, três apresentaram maiores contagens de coliformes totais e sofreram intervenção da equipe do DSEI. A aldeia Maravilha, foi a que apresentou maior concentração inicial de coliformes totais (1299,70 NMP/100 mL) e demonstrou uma redução 89% (145 NMP/100 mL) após a intervenção. As aldeias Joviel e Tarcílio apresentaram redução de 98,6% e 100%, passando de 70 NMP/100mL para 1 NMP/100mL e de 60,2 NMP/100mL para < 1 NMP/100mL,



respectivamente. Estatisticamente as contagens de coliformes totais (NMP/100 mL), antes e após a intervenção, nas três comunidades foram altamente correlacionadas ( $r = 1$ ,  $p = 0,02$ ), sendo a média da diferença das contagens pareadas de coliformes totais (NMP/100 mL) antes e após a intervenção de  $-232,70$  ( $p = 0,013$ ), mostrando que houve uma redução das contagens após esta intervenção.

A Figura 1 mostra a tendência das contagens de coliformes totais nas amostras de água analisadas ao longo dos meses entre os grupos de comunidades indígenas que sofreram ou não a intervenção corretiva. Houve uma interação do tempo e da intervenção sobre as contagens ( $p = 0,03$ ), a qual será detalhada. Acontece um entrecruzamento das tendências dos dois grupos entre junho e julho, que fortalece tal interação comprovada pela ANOVA. No grupo de comunidades que sofreu a intervenção, houve uma tendência geral de queda das contagens, que culminou em agosto. Por outro lado, no grupo de comunidades que não sofreu a intervenção, houve uma tendência geral de aumento das contagens, que culminou em julho.

Figura 1 - Contagens de coliformes totais (Log10) das águas *in natura* das aldeias Maxakali - MG, com e sem intervenção, nos meses maio junho, julho e agosto de 202



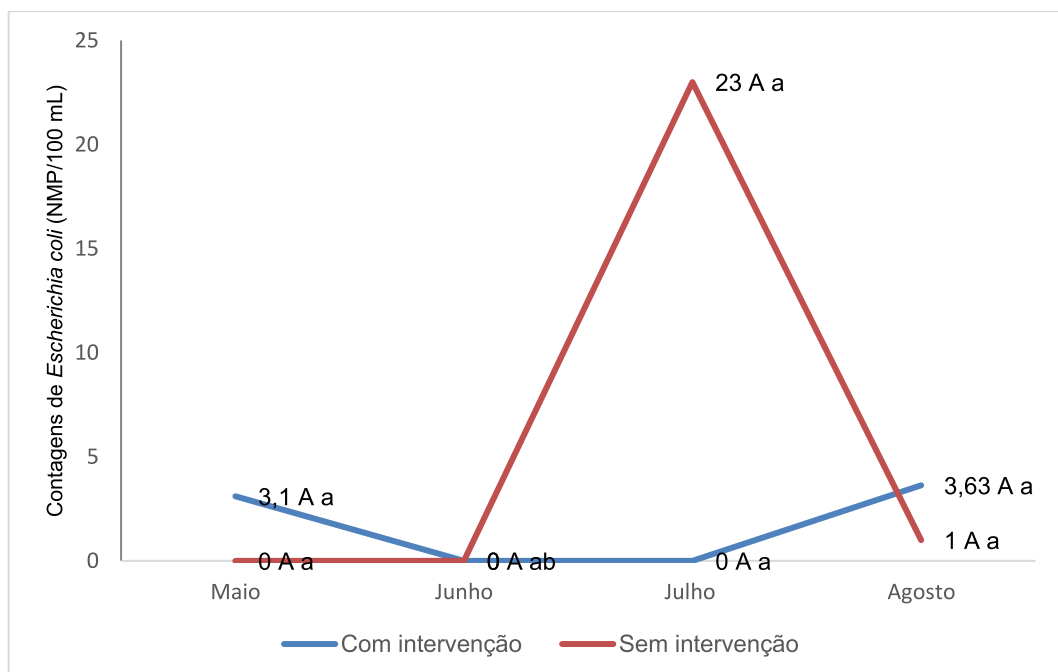
Coefficiente de variação = 67,56%, fator intervenção ( $p = 0,43$ ), fator mês ( $p = 0,06$ ), intervenção x mês ( $p = 0,034$ ). As letras maiúsculas se referem as comparações das médias entre grupos (com e sem tratamento) em cada tempo e quando são diferentes refletem diferenças significativas ( $p < \text{ou} = 0,05$ ). As letras minúsculas se se referem as comparações

das médias entre meses em cada grupo (com e sem tratamento) e quando são diferentes refletem diferenças significativas ( $p < \text{ou} = 0,05$ ).

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A Figura 2 mostra a tendência das contagens de *Escherichia coli* (NMP/100 mL) nas amostras de água analisadas ao longo dos meses entre grupos de comunidades indígenas que sofreram ou não a intervenção corretiva. Não foi possível detectar diferenças significativas devido ao tamanho de amostras serem pequeno e as contagens serem em geral muito baixas. Entretanto, nota-se uma tendência de as que passaram por intervenção manterem contagens mais baixas de *E. coli* ao longo de todos os meses. Por outro lado, no grupo de comunidades que não sofreu a intervenção, apesar das contagens terem sido baixas ao longo da maioria dos meses, houve uma tendência de aumento das contagens no mês de julho de 23 vezes o que ocorreu no mês de agosto.

Figura 2 - Contagens de *Escherichia coli* (NMP/100 mL) das águas *in natura* das aldeias Maxakali-MG com e sem intervenção, nos meses maio junho, julho e agosto de 2023



As letras maiúsculas se referem as comparações das médias entre grupos (com e sem tratamento) em cada tempo e quando são diferentes refletem diferenças significativas ( $p < \text{ou} = 0,05$ ). As letras minúsculas se referem as comparações das médias entre meses em cada grupo (com e sem tratamento) e quando são diferentes refletem diferenças significativas ( $p < \text{ou} = 0,05$ ).

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

## 4 DISCUSSÃO

Este trabalho demonstrou que todas as aldeias incluídas no estudo estavam expostas ao risco devido à presença de coliformes totais e *E. coli* em todas as águas analisadas dessas comunidades, os quais são indicadores de condições ambientais e de contaminação fecal recente com possível presença de enteropatógenos de origem bacteriana.

É relevante salientar que o LACEN/MG foi além do parâmetro de potabilidade, incorporando a análise de patógenos em seu monitoramento. De acordo com a análise dos resultados, a *Salmonella enterica* ssp. *enterica* foi isolada nas amostras coletadas em ambos os polos base. Esse patógeno é excretado nas fezes de animais e seres humanos, resultando na contaminação do solo e corpos d'água. Além disso, a *Salmonella* apresenta notável capacidade de manter sua viabilidade no material fecal por longos períodos (BRASIL, 2011).

A subespécie enterica engloba diversas sorovariedades com a capacidade de infectar uma ampla diversidade de hospedeiros. Sobressai por ser a principal causadora de infecções em seres humanos, figurando como um dos principais agentes associados a surtos registrados globalmente (BRASIL, 2011). No contexto brasileiro, no período de 2013 a 2022, *Salmonella* spp. está entre os principais agentes bacterianos identificados em surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar, ocupando uma posição de destaque nas estatísticas (BRASIL, 2023b). Em situações específicas, a infecção pode assumir um caráter mais severo, especialmente em indivíduos com o sistema imunológico comprometido ou em populações vulneráveis, como a comunidade indígena Maxacakali, que vem apresentando constantes episódios de DDA relacionadas.

Além de *Salmonella enterica* ssp. *enterica* foram isolados das amostras de água, o patógeno *Pseudomonas aeruginosa* e a *Aeromonas hydrophila* que pode apresentar comportamento patogênico em certas condições. A presença de *P. aeruginosa* em água *in natura* não é incomum, o estudo de Crone *et al.* (2020), revelou que amostras obtidas em ambientes com intenso contato humano apresentaram maior prevalência de *P. aeruginosa* em comparação com aquelas com menor contato humano. Este microrganismo tem sido associado a infecções humanas de diversos tipos como urinárias e respiratórias, pneumonias, meningites, endocardites, dentre outras, mas o mesmo não tem sido transmitido via alimentos (ALATRAKTCHI, 2022).

Por outro lado, *A. hydrophila* é encontrada em ambientes aquáticos, como água doce e salgada, e pode estar presente no solo. Embora seja conhecida por causar infecções em peixes e anfíbios, ela também pode causar infecções em humanos. Em seres humanos, as infecções por *Aeromonas hydrophila* podem resultar em gastroenterite, infecções de feridas, e em casos raros, infecções mais graves, em especialmente grupos vulneráveis como crianças, idosos e pacientes imunossuprimidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004). Esse patógeno tem recebido atenção especial pela capacidade de se multiplicar nos alimentos mesmo em temperaturas de refrigeração, o que o torna também importante deteriorante (IGBINOSA *et al.*, 2012). Essa característica, além de aumentar o risco à saúde do consumidor, destaca a importância de medidas preventivas e estratégias de controle eficientes.

Diante do cenário revelado pelo presente estudo, observou-se que 100% da população avaliada está exposta a perigos (enteropatógenos) e, conseqüentemente, ao risco de desenvolver alguma enfermidade relacionada, devido ao consumo de água não potável. Esse cenário é agravado pela falta de infraestrutura sanitária nas aldeias pesquisadas, onde o descarte de dejetos é realizado em fossa negra e sumidouros.

Os resultados da contagem de coliformes totais nas comunidades indígenas Maxakali durante os meses de maio, junho, julho e agosto de 2023 revelam percepções valiosas sobre a qualidade da água nessas localidades. Vários pontos merecem atenção especial. A presença significativa de variação, como indicado pelo alto coeficiente de variação de 67,56%, destaca a heterogeneidade nas amostras coletadas. Essa variabilidade pode ser influenciada por uma série de fatores, incluindo condições ambientais, práticas de saneamento e fatores sazonais.

Durante o período de monitoramento é crucial ressaltar que os resultados relacionados aos coliformes totais, combinados com a presença do indicador fecal *Escherichia coli* e a detecção de microrganismos com potencial patogênico, obtidos antes da intervenção, serviram como um alerta para os órgãos envolvidos no estudo e nortearam a tomada de decisão no mês de maio.

Diante disto, a intervenção adotada pela equipe técnica foi baseada na limpeza inicial em três pontos de coleta. Nas aldeias com intervenção observa-se que no mês de maio as médias das contagens foram maiores e que após a intervenção houve uma queda nas médias das contagens de coliformes totais acompanhada também da

redução de *E. coli* e não sendo mais identificados os microrganismos anteriormente detectados *Salmonella enterica* spp *enterica* e *Pseudomonas aeruginosa*, ou seja, a medida adotada teve impacto positivo imediato. Para os resultados das amostras analisadas das comunidades que não sofreram intervenção, possíveis explicações para as maiores médias de contagens de coliformes totais em julho foram buscadas. Vila Nova e Cachoeira situam na base Maxakali localizada em Bertópolis, município este que nos meses junho, julho e agosto possui as menores precipitações anuais com médias de 32, 30 e 24, respectivamente (<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/minas-gerais/bertopolis-175945/>) (CLIMATE DATA, 2023). A redução nas precipitações pode resultar em redução da vazão de água nos pontos de coleta e, conseqüentemente, no aumento da concentração de coliformes totais e *E. coli* impactando neste aumento significativo em julho.

As contagens de *E. coli*, em muitos pontos de coleta em muitos meses é preocupante, já que este microrganismo é indicador de contaminação fecal e associado a microrganismos com potencial patogênico aos seres humanos. A variação observada deste indicador foi significativamente ampla, possivelmente devido ao tamanho amostral reduzido e às contagens geralmente baixas. No entanto, destaca-se uma tendência mais pronunciada em julho, com um pico de 23 vezes o valor médio das contagens em agosto, no grupo de aldeias sem intervenção.

O fator intervenção apresentou interação significativa com o tempo, que se traduz em uma tendência geral de queda nas contagens de coliformes totais para o grupo que passou por intervenção e crescimento para o grupo sem intervenção.

Isto destaca a importância das ações corretivas, uma vez que, imediatamente e ao longo do tempo, a medida adotada demonstrou ter efeito positivo na redução de microrganismo. Esses resultados ressaltam a necessidade de um monitoramento contínuo para aumentar a efetividade da intervenção como troca e limpeza de filtros a longo prazo.

Com relação à avaliação de vírus entéricos nas amostras analisadas, não foram detectados os vírus da Hepatite A, Norovírus GI/GII e Rotavírus, sendo que um dos fatores que pode ter influenciado essa identificação é a baixa carga viral.

Cabe ressaltar que os vírus são mais resistentes aos processos de desinfecção que as bactérias do grupo coliformes, assim a avaliação do agente viral torna-se aliada na verificação da potabilidade da água (BRASIL, 2023a). Segundo Vitor *et al.* (2021), para avaliar a presença de agente viral na água tratada ou *in natura* é necessário um

grande volume de amostra e métodos eficazes e rápidos para concentração e detecção viral (VITOR *et al.*, 2021). Em amostras ambientais, os vírus são mais difíceis de serem detectados que as bactérias, normalmente por estarem em menor quantidade. É questionável prever que a presença ou a ausência de vírus está relacionada à presença de indicadores bacterianos, pois diversos estudos afirmam que nem sempre estão correlacionados, entretanto, alguns autores sugerem que os adenovírus possam ser os indicadores de contaminação viral (CARDUCCI *et al.*, 2003; TAVARES; CARDOSO; BRITO, 2005).

Em resumo, é fundamental investir nas estruturas de vigilância, no diagnóstico laboratorial e na capacitação do pessoal, visando aprimorar a eficácia das ações básicas de vigilância (FORTES; BARROCAS; KLIGERMAN, 2019). Destaca-se a contínua necessidade de estratégias integradas por meio de ações interdisciplinares para fortalecer o sistema de saúde indígena em Minas Gerais. Esta pesquisa oferece uma base valiosa para futuras reavaliações da estratégia de intervenção, analisando minuciosamente aspectos significativos do sistema de água utilizado nessas comunidades.

## 5 CONCLUSÃO

O monitoramento realizado revelou que todas as aldeias apresentam elevado risco de ocorrência de surtos de DDA, por não atenderem ao padrão de potabilidade (presença de *E. coli*), e pela presença de enteropatógenos. As medidas de intervenção foram capazes de mitigar o risco.

## REFERÊNCIAS

ALATRAKTCHI, F. A. Rapid measurement of the waterborne pathogen *Pseudomonas aeruginosa* in different spiked water sources using electrochemical sensing: towards on-site applications. **Measurement**, [s. l.], v. 195, p. 111124, May 2022.

ASSIS, E. M. *et al.* A vulnerabilidade de populações indígenas: qualidade da água consumida pela comunidade Maxakali, Minas Gerais, Brasil. **Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 32, p. 279–290, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial da *Salmonella* spp.** Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em:

[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_tecnico\\_diagnostico\\_laboratorial\\_salmonella\\_spp.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_diagnostico_laboratorial_salmonella_spp.pdf). Acesso em: 18 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021.**

Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: MS, 2021.

Disponível em:

[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888\\_24\\_05\\_2021\\_rep.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_24_05_2021_rep.html). Acesso em: 18 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente.

Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Guia de vigilância em saúde**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2023a. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_6ed\\_v1.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_6ed_v1.pdf).

Acesso em: 18 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Surtos de**

**doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil: informe 2023.** Brasília:

Ministério da Saúde, 2023b. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2023)

[br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2023](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2023). Acesso em: 30 set. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Especial de Saúde Indígena. **Diretrizes**

**para monitoramento da qualidade da água para o consumo humano em aldeias indígenas:** DMQAI. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em:

[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_monitoramento\\_qualidade\\_agua\\_aldeias\\_indigenas.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_monitoramento_qualidade_agua_aldeias_indigenas.pdf). Acesso em: 18 dez. 2023.

CARDUCCI, A. *et al.* Virological control of groundwater quality using biomolecular tests. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 47, n. 3, p. 261-266, 2003.

CRONE, S. *et al.* The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*.

**APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, Copenhagen, v. 128, n. 3, p. 220-231, Mar. 2020.

FERREIRA, D. C. *et al.* Investment in drinking water and sanitation infrastructure and its impact on waterborne diseases dissemination: the Brazilian case. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 779, p. 146279, Jul. 2021.

FORTES, A. C. C.; BARROCAS, P. R. G.; KLIGERMAN, D. C. A vigilância da qualidade da água e o papel da informação na garantia do acesso. **Saúde Debate**, São Paulo, v. 43, n. esp. 3, p. 20-34, dez. 2019.

IGBINOSA, I. H. *et al.* Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. **Scientific World Journal**, New York, v. 2012, p. 625023, 2012.

KATAYAMA, H.; SHIMASAKI, A.; OHGAKI, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal



seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 3, p. 1033–1039, Mar. 2002.

LOGAN, C.; O'LEARY, J. J.; O'SULLIVAN, N. Real-time reverse transcription-PCR for detection of rotavirus and adenovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis in children. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 44, n. 9, p. 3189-3195, Sep. 2006.

MACHACALIS. *In*: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. [San Francisco]: Wikimedia Foundation, 2023. <https://pt.wikipedia.org/wiki/Machacalis>. Acesso em: 18 dez. 2023.

PAIVA, R. F. D. P. S.; SOUZA, M. F. D. P. Associação entre condições socioeconômicas, sanitárias e de atenção básica e a morbidade hospitalar por doenças de veiculação hídrica no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 1, p. e00017316, 2018.

SYMONDS, E. M. *et al.* A case study of enteric virus removal and insights into the associated risk of water reuse for two waste water treatment pond systems in Bolivia. **Water Research**, Oxford, v. 65, p. 257-270, Nov. 2014.

TAVARES, T. M.; CARDOSO, D. D. P.; BRITO, W. M. E. D. Vírus entéricos veiculados por água: aspectos microbiológicos e de controle de qualidade de água. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 2, p. 85-104, 2005.

VITOR, G. A. *et al.* Saúde e saneamento no Brasil: uma revisão narrativa sobre a associação das condições de saneamento básico com as doenças de veiculação hídrica. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, SP, v. 10, n. 15, p. e521101522913, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Microbial fact sheets. *In*: WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking-water quality**. 3. ed. Geneva: WHO, 2004. v. 1. cap. 11, p. 231-306.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Water, sanitation, hygiene and health: a primer for health professionals**. Geneva: WHO, 2009. 40 p. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CED-PHE-WSH-19.149>. Acesso em: 18 dez. 2023.



## 6 CONCLUSÃO

O levantamento dos surtos ocorridos nos últimos 10 anos identificou as falhas no processo de investigação e evidenciou a necessidade da aplicação de novas metodologias analíticas para a pesquisa de novos agentes para que essas potenciais lacunas não comprometam a elucidação de futuros surtos de DTHA.

A introdução da pesquisa de agentes virais para ampliação do diagnóstico laboratorial dos alimentos envolvidos em surtos de toxinfecções é uma estratégia promissora para a elucidação de casos não conclusivos.

Embora não tenha sido isolado agentes virais nas águas de consumo da comunidade Maxakali, o monitoramento realizado revelou que todas as aldeias apresentaram elevado risco de ocorrência de surtos por não atenderem ao padrão de potabilidade (presença de *E. coli*) e pela presença de enteropatógenos. As medidas de intervenção adotadas no monitoramento foram uma estratégia eficiente para a mitigação do risco. Portanto, um monitoramento contínuo contribuiria para o estabelecimento de ações mais efetivas para a avaliação da qualidade da água consumida por essa população vulnerável.

### **Estratégias previstas:**

- Estabelecimento de uma pactuação regular para o Programa de Monitoramento da Qualidade da Água de Consumo em todos os polos das aldeias indígenas de Maxakali, visando a implementação de medidas eficazes de controle e prevenção;
- Padronização e implementação de um método de detecção viral em amostras de alimentos e água;
- Inclusão do diagnóstico viral no perfil analítico do Laboratório Central de Saúde Pública de Minas Gerais (LACEN/MG);
- Realização de capacitação contínua para as equipes dos setores laboratorial, vigilância sanitária e epidemiológica, fortalecendo suas habilidades e conhecimentos.

## REFERÊNCIAS

- ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. **Journal of Tropical Medicine**, Cairo, Egypt, p. 4674235, 29 jun. 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Perfil analítico da Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Sanitária**: RNLVISA. Brasília: ANVISA, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/anvisa-divulga-perfil-analitico-de-laboratorios-da-rede>. Acesso em: 7 jan. 2024.
- ALADHADH, M. A review of modern methods for the detection of foodborne pathogens. **Microorganisms**, Basel, Switzerland, v. 11, n. 5, p. 1111, Apr. 2023.
- ALATRAKTCHI, F. A. Rapid measurement of the waterborne pathogen *Pseudomonas aeruginosa* in different spiked water sources using electrochemical sensing: towards on-site applications. **Measurement**, [s. l.], v. 195, p. 111124, May 2022.
- AMARAL, S. M. B. *et al.* Panorama dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil no período de 2009 a 2019. **RECIMA21: Revista Científica Multidisciplinar**, [São Paulo], v. 2, n. 11, p. e211935, 2021.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 9223 Enzyme substrate coliform test. B: enzyme substrate test. *In*: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 24. ed. Washington: APHA, 2023.
- ARAGRANDE, M.; CANALI, M. Integrating epidemiological and economic models to identify the cost of foodborne diseases. **Experimental Parasitology**, New York, v. 210, p. 107832, Mar. 2020.
- ASSIS, E. M. *et al.* A vulnerabilidade de populações indígenas: qualidade da água consumida pela comunidade Maxakali, Minas Gerais, Brasil. **Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 32, p. 279–290, 2020.
- BOSCH, A. *et al.* Foodborne viruses: detection, risk assessment, and control options in food processing. **International Journal of Microbiology**, Cairo, Egypt, v. 285, p. 110-128, Nov. 2018.
- BRANDÃO, M. L. L. Pesquisa em vigilância sanitária: uma abordagem na área de microbiologia de alimentos. **Vigilância Sanitária em Debate**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 10-19, nov. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 724, de 1º de julho de 2022**. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. Brasília: Ministério da Saúde; ANVISA, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>. Acesso em: 10 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial da *Salmonella spp.*** Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_tecnico\\_diagnostico\\_laboratorial\\_salmonella\\_spp.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_diagnostico_laboratorial_salmonella_spp.pdf). Acesso em: 18 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021**. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: MS, 2021. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888\\_24\\_05\\_2021\\_rep.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_24_05_2021_rep.html). Acesso em: 18 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Guia de vigilância em saúde**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2023a. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_6ed\\_v1.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_6ed_v1.pdf). Acesso em: 18 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle por doenças transmitidas por alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta/manual-integrado-de-vigilancia-prevencao-e-controle-de-doencas-transmitidas-por-alimentos/view>. Acesso em: 20 fev. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Diretriz para atuação em situações de surtos de doenças e agravos de veiculação hídrica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_agravos\\_veiculacao\\_hidrica.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_agravos_veiculacao_hidrica.pdf). Acesso em: 20 fev. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_epidemiologica\\_7ed.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epidemiologica_7ed.pdf). Acesso em: mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. **Guia para diagnóstico laboratorial em saúde pública: orientações para o sistema nacional de laboratórios**. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em:

[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_laboratorial\\_sistema\\_nacional.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_sistema_nacional.pdf). Acesso em: 10 jun. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em saúde. Informe sobre surtos notificados de doenças transmitidas por água e alimentos – Brasil, 2016-2019. **Boletim Epidemiológico**, Brasília, v. 51, n. 32, ago. 2020b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portaria GM/MS Nº 2031, de 23 de setembro de 2004**. Dispõe sobre a organização do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. Disponível em: [http://www.castelo.fiocruz.br/vpplr/laboratorio\\_referencia/portarias/PORTARIA\\_2031.pdf](http://www.castelo.fiocruz.br/vpplr/laboratorio_referencia/portarias/PORTARIA_2031.pdf). Acesso em: 25 jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil: informe 2023**. Brasília: Ministério da Saúde, 2023b. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2023>. Acesso em: 30 set. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Especial de Saúde Indígena. **Diretrizes para monitoramento da qualidade da água para o consumo humano em aldeias indígenas: DMQAI**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_monitoramento\\_qualidade\\_agua\\_aldeias\\_indigenas.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_monitoramento_qualidade_agua_aldeias_indigenas.pdf). Acesso em: 18 dez. 2023.

CARDUCCI, A. *et al.* Virological control of groundwater quality using biomolecular tests. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 47, n. 3, p. 261-266, 2003.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **National outbreak reporting system (NORS)**. Atlanta: CDC, 2022. Disponível em: <https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/>. Acesso em: 30 de dezembro de 2023.

CHAI, S. J. *et al.* Incubation periods of enteric illnesses in foodborne outbreaks, United States, 1998-2013. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 147, p. e285, Oct. 2019.

CHHABRA, P. *et al.* Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. **The Journal of General Virology**, London, v. 100, n. 10, p. 1393-1406, Oct. 2019.

COHEN, A. L. *et al.* Aetiology and incidence of diarrhoea requiring hospitalisation in children under 5 years of age in 28 low-income and middle-income countries: findings from the Global Pediatric Diarrhea Surveillance network. **BMJ Global Health**, London, v. 7, n. 9, p. e009548, Sep. 2022.

CRONE, S. *et al.* The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. **APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, Copenhagen, v. 128, n. 3, p. 220-231, Mar. 2020.

DHALIWAL, S. *et al.* Cost of Hospitalizations for Leading Foodborne Pathogens in the United States: Identification by International Classification of Disease Coding and Variation by Pathogen. **Foodborne Pathogens Disease**, USA, v. 18, n. 11, p. 812-821, Oct. 2021.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. **Dashboard on foodborne outbreaks**. Parma, Italy: EFSA, 2022. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>. Acesso em: 25 jan. 2024.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union one health 2022 zoonoses report. **EFSA Journal**, Parma, Italy, v. 21, n. 12, p. e8442, 2023.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union one health 2021 zoonoses report. **EFSA Journal**, Parma, Italy, v. 20, n. 12, p. e7666, 2022.

FERREIRA, D. C. *et al.* Investment in drinking water and sanitation infrastructure and its impact on waterborne diseases dissemination: the brazilian case. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 779, p. 146279, Jul. 2021.

FINGER, J. A. F. F. *et al.* Overview of foodborne disease outbreaks in Brazil from 2000 to 2018. **Foods**, Basel, Switzerland, v. 8, n. 10, p. 434, Sep. 2019.

FORTES, A. C. C.; BARROCAS, P. R. G.; KLIGERMAN, D. C. A vigilância da qualidade da água e o papel da informação na garantia do acesso. **Saúde Debate**, São Paulo, v. 43, n. esp. 3, p. 20-34, dez. 2019.

GARCIA, J. M.; MACHADO, S. R.; SEVERINE, A. N. Vírus transmitido por alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 34, n. 291, p. e1029, jul./dez. 2020.

GUTIERREZ, M. B. *et al.* Rotavirus A during the COVID-19 Pandemic in Brazil, 2020–2022: emergence of G6P[8] genotype. **Viruses**, Basel, Switzerland, v. 15, n. 8, p. 1619, Aug. 2023.

HEMALATA, V. B.; VIRUPAKSHIAH, D. B. M. Isolation and identification of foodborne pathogens from spoiled food samples. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, India, v.5, n. 6, p. 1017-1025, 2016.

HEREDIA N.; GARCIA, S. Animals as sources of food-borne pathogens: a review. **Animal Nutrition**, Beijing, China, v. 4, n. 3, p. 250-255, Sep. 2018.

HOFFMANN, S.; SCALLAN, E. Epidemiology, cost, and risk analysis of foodborne disease. *In*: DODD, C. E. R. *et al.* (ed.). **Foodborne diseases**. 3. ed. Cambridge, MA: Elsevier, 2017.

HORN, A. L.; FRIEDRICH, H. Locating the source of large-scale outbreaks of foodborne disease. **Journal of the Royal Society, Interface**, London, v. 16, n.151, p. 20180624, Feb. 2019.

IGBINOSA, I. H. *et al.* Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. **Scientific World Journal**, New York, v. 2012, p. 625023, 2012.

INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION. **GBD compare data visualization**. Seattle, WA: IHME; University of Washington, 2020. Disponível em: <http://vizhub.healthdata.org/gbd-compare>. Acesso em: 18 dez. 2023.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/TS 15216-1:2017**. Microbiology of the food chain: horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR. Geneva: ISO, 2017.

KADARIYA, J.; SMITH, T. C.; THAPALIYA, D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. **BioMed Research International**, New York, v. 2014, p. 827965, 2014.

KATAYAMA, H.; SHIMASAKI, A.; OHGAKI, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 3, p. 1033–1039, Mar. 2002.

LOGAN, C.; O'LEARY, J. J.; O'SULLIVAN, N. Real-time reverse transcription-PCR for detection of rotavirus and adenovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis in children. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 44, n. 9, p. 3189-3195, Sep. 2006.

LOMBARDI, E. C. *et al.* Atuação dos profissionais de saúde na investigação de suspeitas de surtos de DTA's nos hospitais de Uberlândia, Minas Gerais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, SP, v. 27, p. e020005, 2020.

LUCERO, Y. *et al.* Norovirus: Facts and Reflections from Past, Present, and Future. **Viruses**, Basel, Switzerland, v. 13, n. 12, p. 2399, Nov. 2021.

MACHACALIS. *In*: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. [San Francisco]: Wikimedia Foundation, 2023. <https://pt.wikipedia.org/wiki/Machacalis>. Acesso em: 18 dez. 2023.

MARINHO, G. A. *et al.* Perfil Epidemiológico das Doenças Transmitidas por Alimentos e Seus Fatores Causais na Região da Zona da Mata Sul de Pernambuco. **UNOPAR Científica: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 17, n. 4, p. 238-243, out. 2015.

MINAS GERAIS. Decreto nº 47.910, de 7 de abril de 2020. Contém o Estatuto da Fundação Ezequiel Dias. **Diário Executivo de Minas Gerais**, Belo Horizonte, MG, ano 128, n. 77, p. 25, 8 abr. 2020.

MIRANDA, R. C.; SCHAFFNER, D. W. Virus risk in the food supply chain. **Current Opinion in Food Science**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 43-48, Dec. 2019.

O'SHEA, H. *et al.* Viruses associated with foodborne infections. **Reference Module in Life Sciences**, [s. l.], 2019.

OPERARIO, D. J. *et al.* Etiology of severe acute watery diarrhea in children in the global rotavirus surveillance network using quantitative polymerase chain reaction. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 216, n. 2, p. 220-227, Jul. 2017.

PAIVA, R. F. D. P. S.; SOUZA, M. F. D. P. Associação entre condições socioeconômicas, sanitárias e de atenção básica e a morbidade hospitalar por doenças de veiculação hídrica no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 1, p. e00017316, 2018.

PERANOVICH, A. Enfermedades transmitidas por el agua en Argentina y Brasil a principios del siglo XXI. **Saúde e Sociedade**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 297-309, abr./jun. 2019.

ROBILOTTI, E.; DERESINSKI, S.; PINSKY, B. A. Norovirus. **Clinical Microbiology Reviews**, [Washington, DC], v. 28, n. 1, p. 134-164, Jan. 2015.

SAHA, D. *et al.* Rotavirus vaccines performance: dynamic interdependence of host, pathogen and environment. **Expert Review of Vaccines**, London, v. 20, n. 8, p. 945-957, Aug. 2021.

SILVA, L. F.; CHAOUBAH, A.; CAMPOS, E. M. S. Internações por condições sensíveis à atenção primária: prevalência e gastos no estado de Minas Gerais. **Cadernos Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. e31020176, 2023.

SIRTOLI, D. B.; CAMARELLA, L. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**, Curitiba, v. 12, n. 10, p. 197-209, 2018.

SYMONDS, E. M. *et al.* A case study of enteric virus removal and insights into the associated risk of water reuse for two wastewater treatment pond systems in Bolivia. **Water Research**, Oxford, v. 65, p. 257-270, Nov. 2014.

TAVARES, T. M.; CARDOSO, D. D. P.; BRITO, W. M. E. D. Vírus entéricos veiculados por água: aspectos microbiológicos e de controle de qualidade de água. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 2, p. 85-104, 2005.

TRUCHADO, P.; RANDAZZO, W. New challenges for detection and control of foodborne pathogens: from tools to people. **Foods**, Basel, Switzerland, v. 11, n. 12, p. 1788, Jun. 2022.

TRZĄSKOWSKA, M.; HUNT, K.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D. Risk assessment of enteric viruses along the food chain and in the population. **EFSA Journal**, Parma, Italy, v. 20, suppl. 2, p. e200918, Dec. 2022.

VINJÉ, J. *et al.* ICTV virus taxonomy profile: *Caliciviridae*. **Journal of General Virology**, London, v. 100, n. 11, p. 1469–1470, Nov. 2019.

VITOR, G. A. *et al.* Saúde e saneamento no Brasil: uma revisão narrativa sobre a associação das condições de saneamento básico com as doenças de veiculação

hídrica. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, SP, v. 10, n. 15, p. e521101522913, 2021.

WINDER, N.; GOHAR, S.; MUTHANA, M. Norovirus: an overview of virology and preventative measures. **Viruses**, Basel, Switzerland, v. 14, n. 12, p. 2811, Dec. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Estimates of the global burden of foodborne diseases**: Eastern Mediterranean Region. Geneva: WHO, 2019a. Disponível em: <https://www.who.int/multi-media/details/estimates-of-the-global-burden-of-foodborne-diseases-eastern-mediterranean-region>. Acesso: 18 dez. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Estimating the burden of foodborne diseases**. Geneva: World Health Organization, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases/estimates-of-the-global-burden-of-foodborne-diseases>. Acesso em: 18 maio 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Microbial fact sheets. *In*: WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking-water quality**. 3. ed. Geneva: WHO, 2004. v. 1. cap. 11, p. 231-306.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Safer water, better health**. Geneva: World Health Organization, 2019b. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/329905/9789241516891-eng.pdf?sequence=1>. Acesso em: 18 dez. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The top 10 causes of death**. Geneva: WHO, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Acesso em: 18 dez. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Water, sanitation, hygiene and health: a primer for health professionals**. Geneva: WHO, 2009. 40 p. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CED-PHE-WSH-19.149>. Acesso em: 18 dez 2023.

YOON, E. L. *et al.* Current status and strategies for the control of viral hepatitis A in Korea. **Clinical and Molecular Hepatology**, Seoul, Korea, v. 23, n. 3, p. 196-204, Sep. 2017.