REALM REOpening Archives, Libraries and Museums PROJECT

© Versões em espanhol e português produzidas pela APOYOnline — Association for Heritage Preservation of the Americas. Esse documento, oferecido como um serviço informativo da APOYOnline, é uma tradução não oficial do "*Test 6: Natural attenuation as a decontamination approach for SARS-CoV-2 on building materials", original localizado em https://www.oclc.org/content/dam/realm/documents/test6-report.pdf. Essa tradução é publicada com o conhecimento e concordância dos termos especificados no CC-BY-SA LICENSE. Erros e omissões aqui contidos são de responsabilidade exclusiva do tradutor.*

Teste 6: Atenuação natural como uma abordagem de descontaminação para SARS-CoV-2 em materiais de construção

Em resposta à pandemia de COVID-19, o *Institute of Museum and Library Services* (IMLS) e OCLC estão trabalhando em parceria com o Battelle para distribuir informações com base científica concebidas para ajudar a reduzir o risco de transmissão de COVID-19 para funcionários e visitantes que estão envolvidos na entrega ou uso de serviços de arquivos, bibliotecas e museus. Como parte desta pesquisa, o projeto REopening Archives, Libraries, and Museums (REALM) está estudando por quanto tempo o vírus SARS-CoV-2 (o vírus que causa o COVID-19) sobrevive em materiais e métodos comuns para mitigar a exposição. As informações dos resultados dos testes do projeto REALM não devem ser interpretadas como recomendações ou diretrizes.

Estas descobertas contribuem para a evolução do conhecimento científico sobre o SARS-CoV-2, que ainda inclui incertezas sobre: quanto vírus é liberado por uma pessoa infectada por tosse, espirro, fala, respiração, etc.; quanto vírus é necessário para infectar alguém; e a probabilidade de uma pessoa se infectar indiretamente por meio do contato com objetos e superfícies contaminados ("fômites").

Durante as fases 1 e 2, Batelle conduziu seis estudos de laboratório para avaliar a atenuação natural (*i.e.*, inativação) como uma abordagem de descontaminação para materiais contaminados com SARS-CoV-2. Os resultados dos Testes 1 a 5 foram divulgados em 22 de Junho; 20 de Julho, 18 de Agosto, 3 de Setembro e 14 de Outubro de 2020, respectivamente. O Teste 6 começou em 8 de Outubro de 2020.

Cada estudo foi conduzido aplicando o vírus virulento SARS-CoV-2 em cinco materiais mantidos à temperatura ambiente (20ºC a 23,8ºC) e em condições de umidade relativa (30 a 50 por cento). Os materiais do Teste 6 incluíram cinco materiais de construção comumente usados; todos os itens testados estão listados na Tabela 1. O mármore foi fornecido pelo *National Park Service*, o laminado foi fornecido pelo *Metropolitan New York Library Council*, e o aço com revestimento de pó foi fornecido pela *Library of Congress*. Os outros materiais foram adquiridos como amostras de fornecedores. Os cupons de teste foram cortados de cada item, inoculados com o vírus ativo e, em seguida, deixados para secar. Os cupons de teste foram então examinados dois, quatro, seis e oito dias (*i.e.*, períodos de tempo) após a avaliação inicial. O 8º dia foi o final do período testado.

Esse documento sintetiza vários estudos e dados; entretanto, a compreensão científica a respeito do COVID-19 está em evolução continuamente. Esse material está sendo disponibilizado com objetivo de informação, e leitores são estimulados a revisar diretrizes federais, estaduais, tribais, territoriais e locais. Os autores, patrocinadores e pesquisadores não são responsáveis por qualquer dano resultante do uso, uso incorreto, sobre a confiança nela depositada, ou erros de omissão neste documento.

Tabela 1. Materiais do Teste 6

Item	Tipo de Material	Uso
Vidro	Vidro	Janelas, portas, vitrines
Mármore	Mármore Danby	Pisos, balcões, colunas
Laminado	Laminado com suporte de aglomerado	Bancadas
Latão	Latão 260	Luminárias, grades
Aço com revestimento de pó	Aço com revestimento de pó	Armários, estantes, carrinhos de livros, elementos de exposição

Os resultados mostram que após dois dias, o vírus SARS-CoV-2 não foi detectado no latão e no mármore. Após seis dias, o vírus não foi detectado no vidro, no laminado e no aço com revestimento de pó. O latão resultou na taxa de atenuação mais rápida: após uma hora de secagem, o vírus estava abaixo do limite de quantificação (LOQ) e detectável em apenas três dos cinco cupons de teste de latão. Com base na natureza não porosa dos materiais, métodos de desinfecção com líquidos adequados podem promover uma descontaminação mais rápida do que o método de quarentena.. A *U.S. Environmental Protection Agency* (EPA) fornece a lista de desinfetantes e produtos de limpeza de superfície que atendem a seus critérios para o uso contra SARS-CoV-2.

Métodos de teste

Os itens estudados no Teste 6 não foram esterilizados antes do teste. Batelle propagou o isolamento clínico do vírus SARS-CoV-2 em laboratório, seguido por caracterização e teste para estabelecer um título certificado. Todos os testes foram conduzidos em um laboratório de nível de biosegurança (BSL)-3. Uma descrição mais detalhada dos métodos de teste foi publicada no site REALM.[1]

[1] Plano de teste para a atenuação natural do SARS-CoV-2 como uma abordagem de descontaminação, revisado em 29 de julho de 2020, publicado em http://oclc.org/realm

Esse documento sintetiza vários estudos e dados; entretanto, a compreensão científica a respeito do COVID-19 está em evolução continuamente. Esse material está sendo disponibilizado com objetivo de informação, e leitores são estimulados a revisar diretrizes federais, estaduais, tribais, territoriais e locais. Os autores, patrocinadores e pesquisadores não são responsáveis por qualquer dano resultante do uso, uso incorreto, sobre a confiança nela depositada, ou erros de omissão neste documento.

Os cupons de teste (N=5) e de controle (N=1) com tamanho de 1,9 cm × 7,6 cm, por período de tempo, foram recortados de cada um dos cinco materiais. O estoque SARS-CoV-2 foi aplicado em dez gotículas de 10-µL (100 µL total) em cada cupom e deixado para secar em condições ambientais de laboratório em uma cabine de biosegurança Classe II, como mostrado na Figura 1. Este método do volume de inóculo é consistente com métodos de teste de atenuação anteriores desenvolvidos por Battelle e que permite um método controlado de secagem para um número inicial consistente de vírus infecciosos.[2] Depois de seco, um conjunto de cupons de teste foi coletado e processado (amostras T0; Tabela 2), e os cupons de teste restantes foram movidos para uma cabine de biossegurança Classe III, para manter as condições ambientais desejadas de 22 ± 2°C (71,6° F) e umidade relativa (UR) de 40 ± 10. As condições médias alcançadas durante o Teste 6 foram 21,7 ± 0,14°C (71,06° F) e 36,6 ± 0,79% UR. Todos os cupons de teste, após a inoculação e secagem subsequente foram colocados no topo de uma grade de aço inoxidável e inseridos em uma câmara selada, de ambiente controlado, para o teste. Esta câmara não tinha ventiladores cruzados e não tinha luz transmissível; ou seja, os cupons de teste permaneceram no escuro durante a exposição.

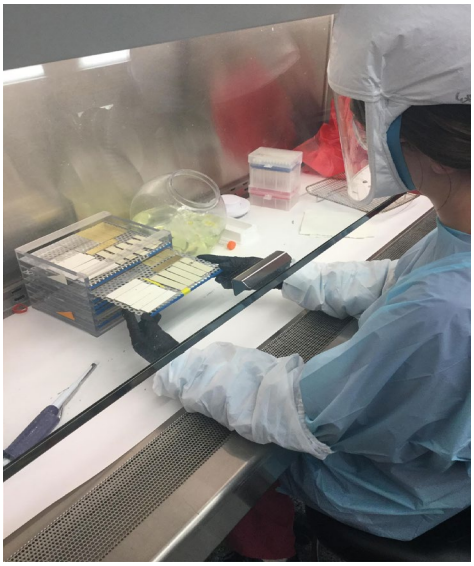


Figura 1. Inoculação de SARS-CoV-2 nos materiais do Teste 6.

Nos períodos de tempo especificados, os cupons de teste foram removidos da câmara ambiental e colocados em tubos cônicos de 50-mL (Fisher Scientific Cat. No. 14-959-49A, Waltham, MA, USA) e extraídos com 10-mL (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Corning Cat. No. 10-010-CV, Corning, NY, USA) de meio de cultura de células completo suplementado com 2% soro fetal bovino (Gibco Cat. No. 10082147, Carlsbad, CA, USA) e penicilina-estreptomicina (Gibco Cat. No. 15140122) agitados sobre plataforma de agitação a 200 rotações por minuto durante 15 minutos.

O limite de quantificação (LOQ) deste ensaio é de 26,2 unidades de dose infecciosa de cultura de tecidos mediana ($TCID_{50}$) (1,42 $\log_{10}$) quando nenhum efeito citotóxico é observado. Uma vez abaixo deste limite, o ensaio não pode mais atribuir uma saída de valor quantitativo; entretanto, uma avaliação qualitativa da presença de infecção pode ser observada através de um exame de microscópio manual. Portanto, quaisquer valores abaixo de LOQ, mas positivos para a presença de vírus, são atribuídos o valor de 10 (indicando positivo) para permitir que seja diferente de 0 (indicando negativo) presença de

[2] Richter W, Sunderman M, Wendling M, Serra S, Mickelsen L, Rupert R, Wood J, Choi Y, Willenberg Z, Calfee M (2019). *Evaluation of altered environmental conditions as a decontamination approach for non-spore-forming biological agents. Applied Microbiology* JAM-2019-0811.

Esse documento sintetiza vários estudos e dados; entretanto, a compreensão científica a respeito do COVID-19 está em evolução continuamente. Esse material está sendo disponibilizado com objetivo de informação, e leitores são estimulados a revisar diretrizes federais, estaduais, tribais, territoriais e locais. Os autores, patrocinadores e pesquisadores não são responsáveis por qualquer dano resultante do uso, uso incorreto, sobre a confiança nela depositada, ou erros de omissão neste documento.

infecção viral nas células hospedeiras Vero E6. Uma média é calculada para os valores atribuídos aos cinco cupons de teste para cada material por período de tempo.

Durante o processo de extração, mostrado na Figura 2, existe um potencial para químicos dos materiais de teste ou adesivos contidos nesses materiais, para lixiviarem o líquido extraído. As células utilizadas para este ensaio $TCID_{50}$ podem morrer por dois efeitos principais: (1) *citotoxicidade*, que é a morte celular causada por um produto químico extraído do cupom de teste, ou (2) *efeito citopático* (CPE), que é a morte celular causada pelo vírus infeccioso extraído do cupom de teste.

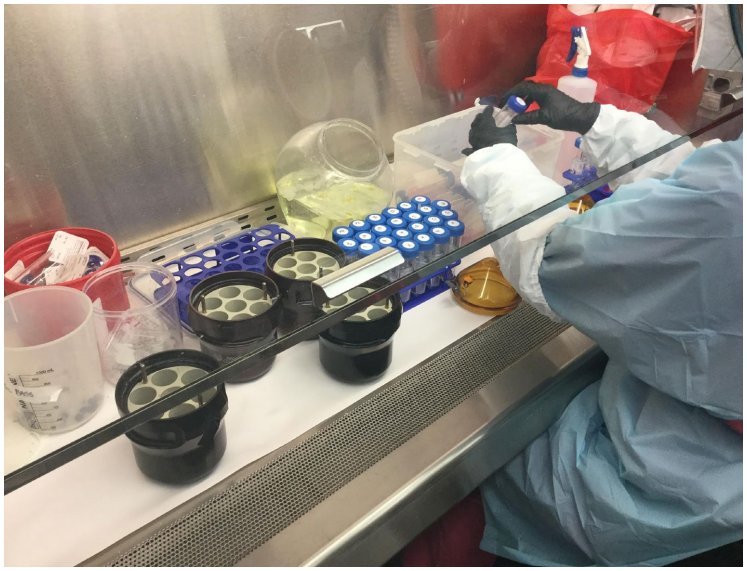


Figura 2. Processamento de material do Teste 6

Uma vez que as monocamadas de cultura de células são necessárias para o ensaio $TCID_{50}$ para determinar quantitativamente o vírus infeccioso, é importante que o extratante não tenha outros componentes além do SARS-CoV-2 que causarão efeitos citopáticos, uma vez que isso resultará em falsos positivos (*i.e.*, morte celular devido a produtos químicos lixiviados no material de teste e não devido a infecção por vírus).

Para mitigar os potenciais efeitos citotóxicos, os extratos foram transferidos para um concentrador (Spin-X UF Concentrator, Corning Cat. No. CLS431491) e centrifugados até que o volume inicial de ~10 mL fosse concentrado para ~ 0,5 mL. Aproximadamente 10 mL de meio de cultura de células completo fresco foram adicionados à amostra concentrada (*i.e.*, extratos) com a finalidade de lavar e remover quaisquer produtos químicos residuais (*i.e.*, uma troca tampão t). O concentrador foi centrifugado novamente e concentrado a ~ 0,5 mL. O meio foi adicionado para equilibrar todos os extratos lavados em aproximadamente 2 mL.

As amostras de teste de controle negativo (*i.e.*, cupons de teste não inoculados com SARS-CoV-2) foram controladas para CPE e são usadas para cada tipo de material. Nenhum dos materiais usados para o Teste 6 resultou em produtos químicos lixiviados que resultaram em CPE na monocamada de cultura de células.

Os extratos das amostras de teste foram ensaiados em células Vero E6 (ATCC CRL-1586, Manassas, VA, USA) e após incubação de 72-horas a 37°C com 5% CO_2, as placas de ensaio de $TCID_{50}$ foram observadas para CPE. A matriz de teste cobriu cinco períodos de tempo (T ou dia): T0, T2, T4, T6 e T8. Conforme mostrado na Tabela 2 e Figura 3, em T0, uma redução de 2,2 para 4,5 log foi observada em todos os materiais. Após uma hora de secagem (período de tempo T0), o vírus só foi detectável

Esse documento sintetiza vários estudos e dados; entretanto, a compreensão científica a respeito do COVID-19 está em evolução continuamente. Esse material está sendo disponibilizado com objetivo de informação, e leitores são estimulados a revisar diretrizes federais, estaduais, tribais, territoriais e locais. Os autores, patrocinadores e pesquisadores não são responsáveis por qualquer dano resultante do uso, uso incorreto, sobre a confiança nela depositada, ou erros de omissão neste documento.

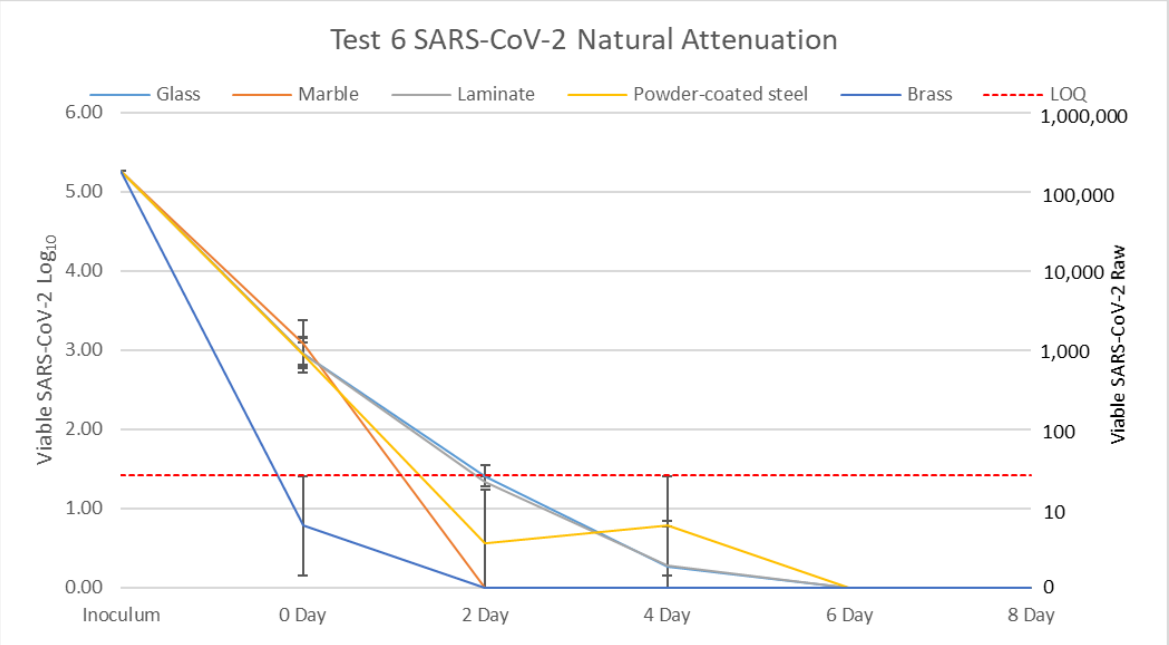
(abaixo de LOQ) em três dos cinco cupons de teste de latão; depois de dois dias, o vírus não foi detectado em nenhum dos cupons de bronze ou mármore. Após quatro dias, o vírus foi detectado (abaixo de LOQ) em vidro, laminado e aço com revestimento de pó resultando 1 de 5, 1 de 5 e 3 de 5 cupons de teste positivos, respectivamente. Após seis dias de exposição, nenhum vírus detectável permaneceu em qualquer um dos cinco materiais de teste.

Tabela 2. Teste 6 log_{10} total de SARS-CoV-2 recuperado nos dias 0, 2, 4, 6 e 8.

Descrição	Inóculo[1]	T0[2]	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8
Vidro	5,26	2,96	1,41	0,26	< LOD	< LOD
Mármore	5,.26	3,08	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Laminado	5,.26	2,96	1,34	0,28	< LOD	< LOD
Aço com revestimento de pó	5,.26	2,94	0,56	0,78	< LOD	< LOD
Latão	5,.26	0,78	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

[1] Número total de vírus aplicado a cada material
[2] Número total de vírus recuperado após ~1 hora de período seco

Figure 3. Teste 6 de atenuação SARS-CoV-2 nos dias 0, 2, 4, 6 e 8, com intervalos de segurança de ± 95% indicados pelas barras verticais pretas para cada data e item do teste.



Esse documento sintetiza vários estudos e dados; entretanto, a compreensão científica a respeito do COVID-19 está em evolução continuamente. Esse material está sendo disponibilizado com objetivo de informação, e leitores são estimulados a revisar diretrizes federais, estaduais, tribais, territoriais e locais. Os autores, patrocinadores e pesquisadores não são responsáveis por qualquer dano resultante do uso, uso incorreto, sobre a confiança nela depositada, ou erros de omissão neste documento.

NOTA DE TRADUÇÃO:

A seguinte nota dos tradutores tem como objetivo esclarecer algumas siglas presentes neste texto.

LOQ - Limite de quantificação: Uma vez que a contagem de vírus cai abaixo de 26.2 os pesquisadores só podem determinar a presença ou ausência de vírus manualmente sob o microscópio.

LOD - Limite de detecção: Ausência de vírus na amostra de material ou atenuação completa.

IAH - hipótese de ação independente

Esse documento sintetiza vários estudos e dados; entretanto, a compreensão científica a respeito do COVID-19 está em evolução continuamente. Esse material está sendo disponibilizado com objetivo de informação, e leitores são estimulados a revisar diretrizes federais, estaduais, tribais, territoriais e locais. Os autores, patrocinadores e pesquisadores não são responsáveis por qualquer dano resultante do uso, uso incorreto, sobre a confiança nela depositada, ou erros de omissão neste documento.