

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ALEXANDRE FAGUNDES CESARIO

**BIOSSEGURANÇA NA COLETA E ANÁLISES DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS
CONTENDO O VÍRUS SARS-CoV-2: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA
LITERATURA**

DOIS VIZINHOS

2023

ALEXANDRE FAGUNDES CESARIO

**BIOSSEGURANÇA NA COLETA E ANÁLISES DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS
CONTENDO O VÍRUS SARS-CoV-2: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA
LITERATURA**

**Biosafety in the collection and analysis of biological samples containing the
SARS-CoV-2 virus: A systematic review of the literature**

Trabalho de conclusão de curso de Especialização apresentado como requisito para obtenção do título de Especialista em Biologia Molecular – Habilitação Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Cleverson Busso.

DOIS VIZINHOS

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

ALEXANDRE FAGUNDES CESARIO

**BIOSSEGURANÇA NA COLETA E ANÁLISES DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS
CONTENDO O VÍRUS SARS-CoV-2: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA
LITERATURA.**

Trabalho de conclusão de curso de Especialização apresentado como requisito para obtenção do título de Especialista em Biologia Molecular – Habilitação Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 16 de fevereiro de 2023

Cleverson Busso
Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR - Campus Toledo

Thiago Cintra Maniglia
Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR - Campus Toledo

Sandra Mariotto
Doutorado

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso – IFMT – Campus Cuiabá Bela Vista

DOIS VIZINHOS

2023

AGRADECIMENTOS

A pandemia de Covid-19 certamente irá marcar de forma muito profunda a vida de toda essa geração que, sentiu na pele todo o impacto causado por essa emergência global que mobilizou toda a humanidade.

Em todas as esferas da sociedade, todos os grupos tiveram que se reinventar para tentar, na medida do possível, manter uma certa normalidade no processo.

Talvez, esse momento e, todas as mudanças que ele nos trouxe, podem marcar uma mudança de comportamento social que verdadeiramente nos colocará no século XXI.

Pensando nestas mudanças e, por estar atuando na área, a educação como um todo, de um dia para o outro, precisou rever suas práticas para que, durante este período, fosse garantido a todos os estudantes o direito ao acesso a educação em todos os níveis e sistemas.

Essa nova forma de fazer educação, que forçosamente tivemos que aprender, do dia para a noite, possibilitou algumas perdas, mas também possibilitou que uma nova forma de fazer educação emergisse durante o caos causado pela pandemia da Covid-19.

A iniciativa, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos – UTFPR/DV, de ofertar o curso de Especialização em Biologia Molecular, de forma totalmente online, possibilitou que os mais variados profissionais, das mais diversas áreas de formação, das regiões mais distantes do Brasil pudessem estudar e trocar experiências profissionais conjuntamente. Tornando possível, assim, encontrarmos, mesmo que virtualmente, e acessar a “novos conhecimentos”, por meio de toda uma diversidade de educandos.

Neste sentido eu quero aqui deixar o meu mais profundo agradecimento aos docentes da UTFPR/DV por terem a iniciativa de fazer essa oferta audaciosa e tão maravilhosamente pensada principalmente para o momento devido a pandemia.

Sou imensamente grato a todos os docentes que conheci durante as disciplinas ofertadas pelo curso. Todos foram de uma competência, dedicação e, de uma compreensão maravilhosa, que só me faz ter certeza de que fiz uma das melhores escolhas da minha vida ao ter aceitado o desafio de fazer esta especialização.

Tive oportunidade de fazer alguns trabalhos com colegas do Brasil inteiro estando no meu estado e aprendi muito com todos eles.

O companheirismo, e a disponibilidade de cada um para ajudar no que fosse preciso foi muito marcante durante todo o curso.

Desta forma, agradeço a cada um dos colegas, alguns mais próximos e outros nem tanto, que estiveram comigo durante todo este tempo. Fiz amigos de verdade neste ambiente educacional virtual.

E por fim, agradeço ao universo por me ter dado a graça de estar vivo, haja vista que tantas outras pessoas não tiveram a mesma sorte que eu e, poder concluir este momento de formação.

Gratidão eterna.

RESUMO

A emergência de saúde pública global, decretada pela Organização Mundial de Saúde, devido a pandemia de Covid – 19, fez com que os procedimentos de segurança laboratorial para a manipulação segura do vírus SARS-CoV-2 ganhasse centralidade nas discussões acerca da Biossegurança. Quais procedimentos deveriam ser implementados com o máximo de urgência devido a gravidade da doença tornou-se objeto de interesse pelo fato de que naquele momento ainda não existia uma perspectiva de um medicamento e/ou vacina para o combate do SARS-CoV-2. Com isso os profissionais da linha de frente em relação a manipulação direta do vírus estariam em grande risco. Desta forma o estabelecimento de protocolos de segurança que reduzissem ao mínimo possível o risco de alguma contaminação nos laboratórios era de vital importância. Quais seriam os agentes de assepsia que teriam maior efetividade para inativar o vírus SARS-CoV-2? Seriam os agentes físicos ou químicos os mais eficientes para tal fim em todo o procedimento de análise para a detecção da presença do vírus em amostras biológicas? Sendo assim este trabalho visa realizar uma revisão sistemática de literatura referente aos três últimos anos, publicadas apenas em língua inglesa, para avaliar como a literatura especializada tem discutido este assunto e, destacar quais dos agentes de assepsia seria o mais efetivo. Para tal, utilizou-se a busca de artigos sobre o assunto nas bases de dados tais como PubMed, *Web of Science* e algumas literaturas básicas sobre a Biossegurança de forma geral e, nos utilizamos de palavras chaves para direcionar nossa busca ao tema em questão. Em nossa busca preliminar, encontramos poucos artigos que descrevem como os agentes químicos e físicos de inativação viral atuam na contenção do vírus SARS-CoV-2. Entendemos que estes estudos são de vital importância para que ações urgentes de Biossegurança possam ser implementadas nos mais variados laboratórios em qualquer lugar do mundo de forma rápida para trazer maior segurança aos laboratórios de análise seja do vírus SARS-CoV-2 ou em qualquer outra situação haja vista estes estudos edificarem conhecimentos gerais acerca das alternativas mais eficientes para a inativação de um agente etiológico de grande periculosidade.

Palavras-chave: biossegurança laboratorial SARS-CoV-2; inativação viral; agentes físicos; agentes químicos.

ABSTRACT

The global public health emergency, decreed by the World Health Organization, due to the Covid-19 pandemic. Made laboratory safety procedures and procedures for the safe handling of the SARS-CoV-2 virus to gain centrality in discussions about Biosafety. Which procedures should be implemented with the utmost urgency due to the severity of the disease became an object of interest. This fact due there was still no prospect of a drug and/or vaccine to combat SARS-CoV-2. Therefore, frontline professionals in relation to direct manipulation of the virus would be at great risk. In this way, the establishment of safety protocols that reduce the risk of some contamination in the laboratories to the minimum possible was of vital importance. Which asepsis agents would be most effective in inactivating the SARS-CoV-2 virus? Would physical or chemical agents be the most efficient for this purpose in the entire analysis procedure for detecting the presence of the virus in biological samples? Therefore, this work aims to carry out a systematic review of the literature for the last three years, published only in English, to assess how the specialized literature has discussed this subject and to highlight which of the asepsis agents would be the most effective. For this, we used the search for articles on the subject in databases such as PubMed, Web of Science and some basic literature on Biosafety in general, and we used keywords to direct our search to the topic in question. In our preliminary search, we found few articles that describe how chemical and physical viral inactivation agents act to contain the SARS-CoV-2 virus. We understand that these studies are of vital importance so that urgent Biosafety actions can be implemented in the most varied laboratories anywhere in the world quickly to bring greater safety to the analysis laboratories, whether from the SARS-CoV-2 virus or in any other situation. given that these studies build general knowledge about the most efficient alternatives for the inactivation of a highly dangerous etiologic agent.

Keywords: Laboratory Biosafety SARS-CoV-2; Viral Inactivation; Physical Agents; Chemical Agents.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de seleção, identificação e análise dos artigos nas bases de dados.....	18
Quadro 1 - Caracterização dos artigos elegíveis.....	19
Quadro 2 - Análise dos resultados e limitações/inclusões/implicações.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Covid-19	Doença do Coronavírus SARS-CoV-2
MSCs	Cabines de Segurança Microbiológica
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	A temática da biossegurança no mundo e no Brasil.....	12
1.2	Problemas de pesquisa.....	13
1.3	Hipóteses.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3	DESENVOLVIMENTO.....	16
4	RESULTADOS.....	18
5	DISCUSSÃO.....	35
5.1	Técnicas eficazes em evidência para inatividade e indetecção de diferentes linhagens do SARS-CoV-2.....	35
5.2	Aspectos relevantes de biossegurança.....	38
6	CONCLUSÃO.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

O termo “biossegurança” compreende todas as ações que asseguram as condições de segurança biológica alcançadas através da aplicação de princípios, tecnologias e ações destinadas a prevenir, reduzir, controlar ou eliminar riscos inerentes em diferentes atividades que podem envolver riscos à saúde humana, animal e vegetal (BRASIL, 2010).

Frente à emergência global que a população vivenciou, provocada pela pandemia da COVID-19 e que impulsionou diferentes instituições para estimular seus pesquisadores e professores a discutir caminhos para o enfrentamento da pandemia, evidenciou-se ainda mais essa temática. As discussões contínuas, surgiram para assegurar que as condições refletissem boas práticas de Biossegurança, e estas, fossem implementadas o mais breve possível em todas as instâncias que teriam contato direto com o vírus SARS-CoV-2 (WIDERA, 2021).

Neste contexto, os laboratórios, instituições de pesquisa e hospitais que estariam na linha de frente em relação à manipulação do vírus SARS-CoV-2 precisaram reavaliar as suas práticas já utilizadas, para enfrentar a gravidade da situação mundial. Tendo em vista que se fazia necessário garantir aos profissionais da linha de frente o máximo de segurança possível (DELPUECH *et al.*, 2022; PASTORINO *et al.*, 2020a).

Esperava-se assim, que os protocolos de manipulação do vírus nestes ambientes fossem seguidos com o máximo de rigor, de modo a evitar qualquer tipo de incidente. Sendo assim, todo o processo, desde a coleta do material biológico até a sua total inativação, exigiria grande cuidado e rigor na assepsia dos espaços e equipamentos utilizados (AUERSWALD, 2021).

Baseado nestes argumentos, surgiu o interesse de desenvolver uma revisão sistematizada com nível de evidências de alto impacto, tendo em vista a utilização de bases de dados de acesso amplo e internacionais, afim de conhecer os procedimentos e protocolos de desinfecção conhecidos para combater o vírus SARS-CoV-2. Desta forma, utilizou-se como parâmetro de pesquisa os principais métodos que utilizavam agentes químicos e físicos empregados na Biossegurança de desinfecção no período de 2019 a 2022.

O interesse pela temática surgiu a partir da curiosidade do autor como estudante de Biotecnologia e, pela prática profissional em razão da instalação de um

laboratório de análise em seu local de trabalho, o que possibilitou que o mesmo estivesse diretamente envolvido no âmbito das análises biológicas do SARS-CoV-2.

Além disso, a aproximação com a vida acadêmica, possibilitou gerar reflexões importantes acerca da temática de biossegurança e uso de técnicas efetivas no âmbito da desinfecção do ambiente como garantia de segurança pessoal e coletiva.

1.1 A temática da biossegurança no mundo e no Brasil

No mundo, já ocorreram diferentes situações emergenciais no contexto da saúde pública, que refletiram de forma multifatorial, exigindo da humanidade um processo de compreensão da realidade estabelecida. Ademais, fez-se necessário atitudes de contenção rápidas por parte de toda a sociedade para a superação do momento de crise em que estavam vivendo (PENNA, 2010).

Estes episódios acumularam conhecimentos que foram úteis à época e, ainda servem de base para a superação de outros momentos de crise local ou global conforme nos relata a história. A contextualização de melhores medidas destas situações, justificam-se por avanços dos conhecimentos científicos nas mais diversas áreas da ciência, em especial, relativas aos dados biológicos (BRASIL, 2010).

Assim, valorizaram-se ainda mais as necessidades de investimento científico e conhecimento com o foco nos desdobramentos políticos, sociais, econômicos, ambientais e de saúde, tornando a pautar o financiamento em princípios e conceitos éticos e bioéticos. Estas discussões têm como pilar de sustentação, a manutenção da vida em seu aspecto mais abrangente que possa garantir o direito a uma condição digna de existência do ente, biosfera (FAPESP, 2022).

No contexto da pandemia por COVID-19, houve destaque para as ações de Biossegurança, principalmente desde o momento que foram registrados os primeiros casos no Brasil. A partir daí, os órgãos de saúde intensificam assim, as discussões para que o diagnóstico dos exames que detectariam a doença tivessem o máximo de celeridade e precisão (PATTERSON *et al.*, 2020).

Haja vista que, naquele momento, não existia nenhum tratamento estabelecido e muito menos uma vacina que pudesse controlar a propagação do vírus mundialmente, assim como, a capacidade de infecção e propagação da Covid-19 quase desconhecida, este fato exigia das agências e/ou órgãos de saúde e pesquisa

um cuidado mais que redobrado durante o processo de manipulação laboratorial do SARS-CoV-2 (KIM *et al.*, 2020; WELCH *et al.*, 2020).

Desta forma, as inovações tecnológicas em variados âmbitos de pesquisa possuem como desafio garantir estratégias, práticas e orientações em formato de protocolos. Cita-se, por exemplo, a minimização de possíveis riscos que uma inovação poderia vir a representar para a vida, independente do grupo de seres vivos, é importante pensar na proteção da vida humana e, para o meio ambiente, em geral (BRASIL, 2010).

1.2 Problemas de pesquisa

Esta revisão norteou-se pelas seguintes questões:

Dentre os agentes físicos e/ou químicos utilizados em procedimentos/protocolos de Biossegurança, quais deles a literatura internacional aponta como sendo os mais eficazes em todo o fluxo de análise do material biológico coletado?

Quais os pontos críticos nos procedimentos/protocolos de Biossegurança foram apontados pela literatura especializada como relevantes no percurso da análise biomolecular em relação ao SARS-CoV-2?

1.3 Hipóteses

Espera-se que, em comparação com a eficácia dos agentes físicos e/ou químicos adotados nos procedimentos/protocolos de biossegurança para coleta e manejo laboratorial do SARS-CoV-2, a literatura salienta a maior eficácia dos agentes químicos sobre os agentes físicos de conformidade com o material coletado.

Os procedimentos/protocolos de biossegurança para coleta e manuseio laboratorial do SARS-CoV-2 na literatura internacional devem enfatizar a maior eficácia dos agentes físicos sobre os agentes químicos de acordo com o material coletado.

Nas pesquisas de literatura internacional buscou-se esclarecimentos sobre a existência de pontos críticos relacionados ao uso de agentes químicos e/ou físicos aplicados em comportamentos/protocolos de biossegurança para coleta e manuseio laboratorial de SARS-CoV-2.

A adoção de procedimentos/protocolos rígidos na coleta e manuseio laboratorial de material biológico, assegurar-se a superação de potenciais pontos críticos no decorrer da análise biomolecular em relação ao SARS-CoV-2.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Comparar os procedimentos e protocolos de desinfecção para o vírus SARS-CoV-2, no âmbito dos tipos de agentes químicos e/ou físicos utilizados para Biossegurança em evidência científica no período de 2019 a 2022.

2.2 Objetivos específicos

Aprofundar o conhecimento sobre a literatura internacional a fim de identificar e comparar a eficiência das técnicas em evidência para inatividade e não detecção do SARS-CoV-2.

Analisar estudos que relacionam aspectos importantes acerca do vírus SARS-CoV-2 e que contribuem para a Biossegurança.

Conhecer os métodos de desinfecção por meio da literatura.

3 DESENVOLVIMENTO

Foi realizada uma revisão sistemática, a qual se fez uso de fonte de dados da literatura. Esse tipo de investigação disponibilizou um resumo das evidências relacionadas a uma estratégia de intervenção específica, mediante a aplicação de métodos explícitos e sistematizados de busca, apreciação crítica e síntese da informação selecionada (LINDE; WILLICH, 2003).

As revisões sistemáticas são particularmente úteis para integrar as informações de um conjunto de estudos realizados separadamente sobre determinada intervenção, que podem apresentar resultados conflitantes e/ou coincidentes, bem como identificar temas que necessitem de evidência, auxiliando na orientação para investigações futuras (LINDE; WILLICH, 2003).

A definição do tema da pesquisa se deu devido a centralidade da temática de Biossegurança em laboratórios de análise que trabalham na detecção do SARS-CoV-2, mais especificamente, discutindo os procedimentos/protocolos de assepsia laboratorial que envolvem agentes físicos e químicos que, em suas orientações de segurança, apontam qual dos agentes utilizados apresentaram maior eficiência quanto a assepsia nos laboratórios.

O local da pesquisa foi em duas plataformas de bases de dados: *PubMed* e *Web of Science*, delimitando a pesquisa entre os anos de 2019 a 2022, sendo selecionadas apenas publicações feitas na língua inglesa. As duplicações de artigos e os trabalhos publicados em outras línguas foram removidos, não fazendo parte da presente pesquisa.

Para esta busca, foram utilizados os operadores booleanos “*and*”, “*or*” e “*not*”, para guiar a pesquisa, que foi realizada a partir das seguintes palavras chaves: “*laboratory biosafety SARS-CoV-2*”; “*viral inactivation*”; “*physical agents*”; “*chemical agents*”, sendo na forma portuguesa: biossegurança laboratorial SARS-CoV-2; inativação viral; agentes físicos; agentes químicos.

As etapas do trabalho foram divididas da seguinte forma (MOHER, *et al.*, 2009):

1. Pesquisa de literatura nas bases dos dados, refinando-se o tema com base no problema desta pesquisa;
2. Análise dos textos das literaturas, obedecendo sempre ao problema de pesquisa e verificando a concordância ou discordância com as hipóteses propostas;

3. A partir dos resultados, organizou-se a discussão apresentando-se os pontos de maior relevância de cada texto.

Após a seleção e análise de cada artigo, criou-se um banco de dados no software Excel®, cujo, é de fácil manipulação para facilitar o acesso às informações de cada estudo. Os estudos foram sintetizados quanto à identificação e métodos com as informações obtidas, sendo de acordo com identificação dos autores, título do estudo, periódico de publicação, classificação segundo o Qualis Capes, ano de publicação, país onde foi desenvolvido, objetivos dos estudos, processo de recolha de dados, medidas de efeito e avaliação de viés reportado (Quadro 1).

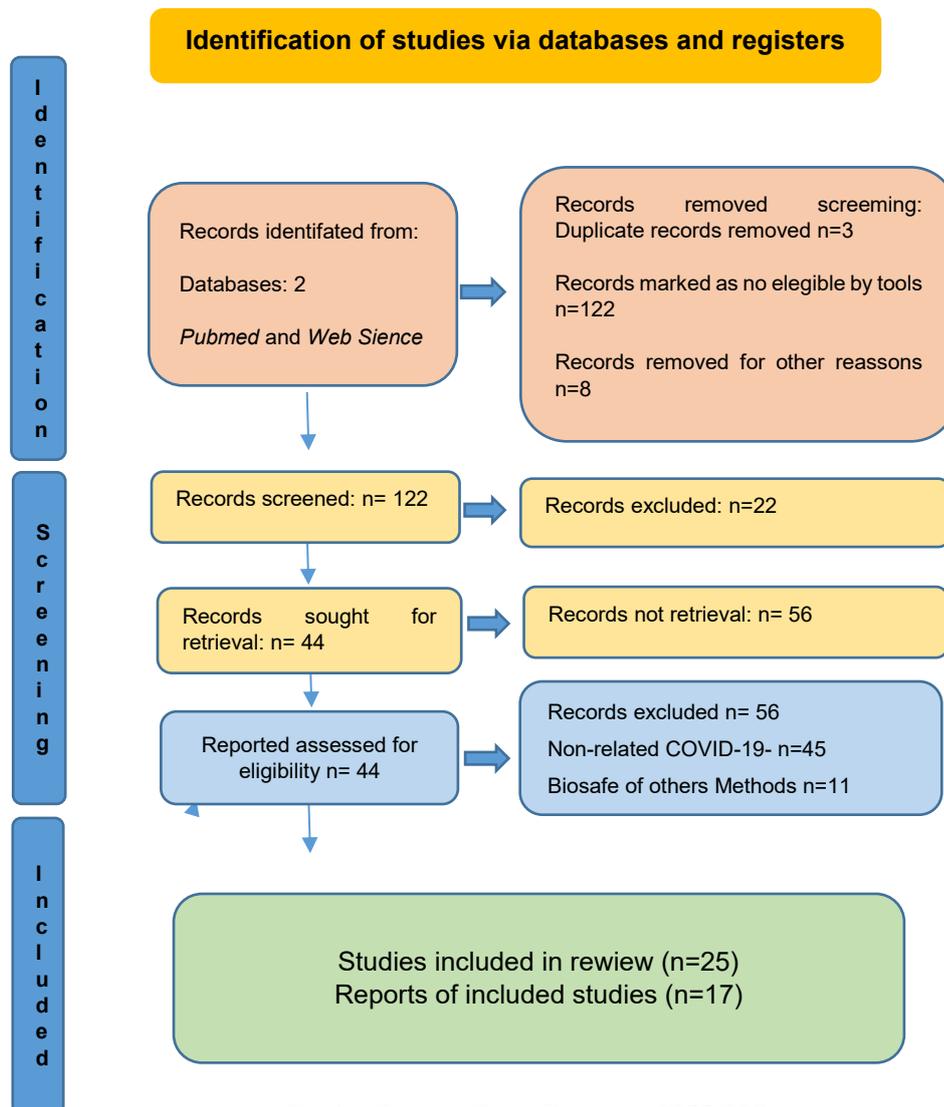
Posteriormente a coleta destas informações, compilou-se acerca dos resultados e discussão, descrevendo a seleção dos estudos de acordo com a síntese dos resultados acerca da discussão, trazendo informações sobre interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências. Buscou-se também, destacar todas as limitações da evidência e dos processos de construção, incluídas na revisão e implicações dos resultados para a prática, política e investigação futura (Quadro 2).

Por se tratar de uma pesquisa que não envolvesse seres humanos, não se fez necessário a aprovação desta, pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

4 RESULTADOS

Os estudos foram selecionados previamente, sendo identificados pelo cruzamento das palavras chaves nas bases de dados do *PubMed* e *Web of Science*, e posteriormente realizado a análise da identificação e métodos utilizados. Foram considerados elegíveis para análise 17 artigos, e 25 usados para revisão (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma de seleção, identificação e análise dos artigos nas bases de dados



Fonte: Prisma Flow Diagram 2020/2021.

No Quadro 1, constam-se as informações acerca da análise de identificação e métodos dos artigos, sendo os mesmos organizados por autores, título do estudo, periódico de publicação, objetivos dos estudos e processo de recolha de dados.

Quadro 1 – Caracterização dos artigos elegíveis

Nº Artigo	Autores	Título	Periódico	Ano	Objetivos	Recolha de dados
1	AUERSWALD <i>et al.</i> , 2021	<i>Assessment of inactivation procedures for SARS-CoV-2</i>	BMC- Journal of General Virology	2021	Avaliar a técnica química e térmica de inativação de três diferentes linhagens da SARS-CoV-2 encontradas na Cambodia.	Seleção de linhagem celular da SARS-COV2, Vírus e cultura celular, inativação da SARS-COV2 pelas duas técnicas e análise <i>Cell lines</i> , e pós ativação para comparação de presença de vírus viável.
2	PATTERSON <i>et al.</i> , 2020	<i>Methods of Inactivation of SARS-CoV-2 for Downstream Biological Assays</i>	BMC- Journal of Infection Diseases	2020	Avaliar e descrever protocolos de inativação física e química do SARS-CoV-2.	Cultura de células e vírus, Inativação de vírus e Viabilidade e Quantificação de Vírus
3	PASTORINO <i>et al.</i> , 2020b	<i>Heat Inactivation of Different Types of SARS-CoV-2 Samples: What Protocols for Biosafety, Molecular Detection and Serological Diagnostics?</i>	Viruses	2020	Avaliar três protocolos de inativação por calor (56 °C - 30 min, 60 °C - 60 min e 92 °C - 15 min) em SARS-CoV-2 usando (i) sobrenadante de cultura de células infectadas, (ii) vírus soros (iii) e amostras nasofaríngeas.	Estirpe e titulação do vírus, Amostras usadas para inativação por calor, Inativação por Calor de Amostras de SARS-CoV-2, Integridade do RNA SARS-CoV-2 antes e depois da inativação por calor.
4	PAN <i>et al.</i> , 2020	<i>Potential False-Negative Nucleic Acid Testing Results for</i>	Clin Chem	2020	Investigar se a inativação térmica poderia afetar os resultados do NAT viral, e os efeitos de	Inativação térmica nos resultados quantitativos de RT-PCR do SARS-CoV-2

		<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 from Thermal Inactivation of Samples with Low Viral Loads</i>			diferentes tipos de amostras, tempos de preservação de amostras e uma abordagem de inativação química no NAT.	e abordagem de inativação química no NAT.
5	PASTORINO <i>et al.</i> , 2020a	<i>Evaluation of Chemical Protocols for Inactivating SARS-CoV-2 Infectious Samples</i>	Viruses	2020	Norma francesa NF-EN-14476+A2 derivada da norma europeia EN-14885 para avaliar o risco de manipulação de vírus infecciosos antes da extração de RNA.	Identificação das linhagens do vírus, RT PCR e quantificação, lisagem do RNA, leitura e inativação
6	ZHANG <i>et al.</i> , 2022	<i>Neutralizing SARS-CoV-2 by dimeric side chain-to-side chain cross-linked ACE2 peptide mimetics</i>	Chem Commun (Camb)	2022	Fornecer uma nova visão para a otimização de inibidores anti-SARS-CoV-2 baseados em peptídeos.	Desenho do mimético dimérico de peptídeo ACE2 com o foco de otimizar inibidores anti-SARS-CoV-2 baseados em peptídeos.
7	BANIK <i>et al.</i> , 2021	<i>Inactivation of SARS-CoV-2 virus in saliva using a guanidium based transport medium suitable for RT-PCR diagnostic assays</i>	Plos One	2021	Avaliar um tampão à base de tiocianato de guanídio, eNAT™ (Copan) como um possível meio de transporte e inativação para testes <i>downstream</i> de Reação em Cadeia de Transcriptase-Polimerase (RT-PCR) para detectar SARS-CoV-2.	Reação em Cadeia de Transcriptase-Polimerase (RT-PCR) para detectar SARS-CoV-2. A inativação de SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 em eNAT e em saliva diluída foi estudada em diferentes tempos de incubação. A estabilidade do RNA viral em eNAT também foi avaliada por até 7

						dias em temperatura ambiente (28 °C), condições refrigeradas (4 °C) e a 35 °C.
8	DELPUECH et al., 2022	<i>Heat inactivation of clinical COVID-19 samples on an industrial scale for low risk and efficient high-throughput qRT-PCR diagnostic testing</i>	Nature	2022	Relatar por diferentes kits de inativação por calor de amostras clínicas de COVID-19 antes do processamento laboratorial para detecção de SARS-CoV-2 por RT-qPCR.	Aquecimento por processo usando fornos de catering industriais para inativação por calor a granel de amostras de swab orofaríngeo/nasofaríngeo dentro de sua embalagem de contenção secundária antes do processamento no laboratório para permitir que todas as atividades subsequentes sejam realizadas em laboratório aberto.
9	WELCH et al., 2020	<i>Analysis of Inactivation of SARS-CoV-2 by Specimen Transport Media, Nucleic Acid Extraction Reagents, Detergents, and Fixatives</i>	J Clin Microbiol	2020	Avaliar um total de 23 reagentes comerciais projetados para transporte de amostras clínicas, extração de ácido nucleico, e inativação de vírus por sua capacidade de inativar o SARS-CoV-2, bem como sete outros produtos químicos comuns, incluindo detergentes e fixadores.	Métodos de inativação e avaliações de risco para laboratórios de diagnóstico e pesquisa que trabalham com SARS-CoV-2.
10	KIM et al., 2020	<i>Development of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-</i>	J Microbiol	2020	Estabelecer um método de inativação seguro para SARS-CoV-2 sem comprometer a quantidade de genoma viral	Os resultados comprovam que o SARS-CoV-2 viável é prontamente inativado quando incubado a 56 °C por 30 minutos ou a 65 °C por 10 minutos qRT-PCR de

		<i>CoV-2) thermal inactivation method with preservation of diagnostic sensitivity.</i>			amplificável necessária para diagnósticos clínicos.	espécimes inativados por calor a 56 °C por 30 min ou 65 °C por 15 min revelou estabilidade de RNA genômico semelhante em comparação com espécimes não inativados por calor.
11	PÉREÉ <i>et al.</i> , 2020	<i>Thermal inactivation and nucleic acid amplification-based testing for SARS-CoV-2</i>	J Clin Virol.	2020	Investigar se a inativação térmica poderia afetar os resultados da detecção viral usando o ensaio RealTime SARS -CoV-2 (Abbott Molecular).	Amostras de pacientes com COVID-19 hospitalizados na universidade Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, França, foram incluídas no estudo. Todos os pacientes tiveram um resultado positivo de SARS-CoV-2 usando o Allplex™ 2019-nCoV Assay (Seegene, Seul, Coréia), um ensaio de PCR multiplex em tempo real que detecta os genes-alvo do coronavírus E, RdRP e N. As proporções de pacientes com resultados de PCR positivos pelo ensaio Abbott RealTi me SARS-CoV-2 usando amostras não inativadas e inativadas pelo calor foram comparadas usando o teste de classificação sinalizada emparelhada e emparelhada de Wilcoxon.
12	ZOU <i>et al.</i> , 2020	<i>Heat inactivation decreases the qualitative real-time RT-PCR detection</i>	Diagn Microbiol Infect Dis	2020	Investigar se a inativação de calor em amostras clínicas antes da detecção afetará a precisão	Efeito da inativação na RT-PCR qualitativa em tempo real foram realizados com amostras diluídas em vez de amostras clínicas

		<i>rates of clinical samples with high cycle threshold values in COVID-19</i>			da detecção qualitativa de RT-PCR em tempo real.	
13	WU <i>et al.</i> , 2020	<i>Effects of Different Temperature and Time Durations of Virus Inactivation on Results of Real-time Fluorescence PCR Testing of COVID-19 Viruses</i>	Diagn Microbiol Infect Dis	2020	Investigar se a inativação de calor em amostras clínicas antes da detecção afetará a precisão da detecção qualitativa de RT-PCR em tempo real.	Inativação na RT-PCR qualitativa em tempo real realizados com amostras clínicas.
14	CHEN <i>et al.</i> , 2020	<i>Influence of Different Inactivation Methods on Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Copy Number</i>	J Clin Microbiol.	2020	Comparar a inativação viral foi realizada por três métodos diferentes: (i) incubação com o reagente Trizol LS por 10 min em temperatura ambiente, (ii) aquecimento em banho-maria a 56 °C por 30 min e (iii) tratamento em alta temperatura, incluindo autoclavagem a 121 °C por 20 min, fervura a 100 °C por 20 min e aquecimento a 80 °C por 20 min.	Ensaio de PCR digital para determinar o número absoluto de cópias do RNA SARS-CoV-2 em 63 amostras de swab nasofaríngeo e avaliar o efeito dos métodos de inativação no número de cópias do RNA viral.

15	WANG <i>et al.</i> , 2020	<i>The impacts of viral inactivating methods on quantitative RT-PCR for COVID-19</i>	Comparative Study	2020	Explorar o efeito de quatro métodos de inativação de vírus nos resultados de detecção rápida do ácido nucleico do COVID-19.	Amostras coletadas de swabs nasofaríngeos de 2 pacientes diagnosticados com COVID-19 no First People's Hospital of Zhaoqing City, cada amostra foi dividida em 5 grupos (grupo A~E), usando RT-PCR fluorescente em tempo real para detectar o gene N de COVID-19 e o gene ORF1ab simultaneamente.
16	JUREKA <i>et al.</i> , 2020	<i>Propagation, Inactivation, and Safety Testing of SARS-CoV-2</i>	Vírus	2020	Relatar métodos usados para cultivar SARS-CoV-2 em várias linhagens celulares e para medir a infectividade do vírus por ensaio de placa usando agarose ou celulose microcristalina como sobreposição, bem como um ensaio de formação de foco específico para SARS-CoV-2.	Demonstra-se inativação efetiva por trizol, formalina tamponada neutra a 10 %, beta propiolactona e calor.

17	KAMPF; VOSS; SCHEITHAUER, 2020	<i>Inactivation of coronaviruses by heat</i>	J Hosp Infect.	2020	Descobrir qual temperatura e tempo de exposição são necessários para a inativação dos Corona vírus.	Revisão de literatura no Medline, em combinação com “coronavírus” inativação por calor (17 acertos), desinfecção por calor (5 acertos), inativação por calor (5 acertos), morte por calor (1 acerto), inativação térmica (6 acertos), desinfecção térmica (2 acertos), inativação térmica (3 acertos) e morte térmica (0 acertos).
18	HENWOOD, 2020	<i>Coronavirus disinfection in histopathology</i>	J Histotechnol	2020	Avaliar por histopatologia o processo de desinfecção química.	Usando dados obtidos de coronavírus semelhantes, por exemplo, síndrome respiratória aguda grave (SARS) e síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), os especialistas estão confiantes de que 70 % de etanol e 0,1 % de hipoclorito de sódio devem inativar o vírus. Fixação de formalina e amostras de aquecimento a 56 °C, conforme usado no processamento de tecidos de rotina.
19	KAMPF <i>et al.</i> , 2020	<i>Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces</i>	J Hosp Infect.	2020	Revisar a literatura sobre todas as informações disponíveis sobre a persistência de coronavírus humano e	Recolheu artigos na internet, mas não cita fontes de dados.

		<i>and their inactivation with biocidal agents</i>			veterinários em superfícies inanimadas, bem como estratégias de inativação com agentes biocidas usados para desinfecção química, por exemplo, em instalações de saúde.	
--	--	--	--	--	--	--

Fonte: Autoria própria (2023)

Destaca-se nos resultados obtidos, que, dos 17 artigos incluídos no estudo, 15 (78,95 %) foram publicados em 2020; frente aos países de publicação, 6 estudos (31,58 %) foram publicados na China, 3 (15,79 %) do Reino Unido, e 2 (10,53 %) na Alemanha. Deste total, confirmamos ainda que 12 (63,15 %) foram publicados em periódicos de Qualis A1 para Biotecnologia.

Entre todos os estudos avaliados, apenas 2 artigos eram revisões, ou seja, consistiam de resultados secundários, enquanto 17 (89,47 %) artigos foram experimentais, randomizados em que avaliaram a eficácia de diferentes técnicas de inativação por calor, como principal fonte física, e diferentes químicos, sendo citado os compostos, trizol em 10 artigos (52,63 %) e formaldeído em 5 deles (26,32 %) (Quadro 1).

No Quadro 2 organizou-se a síntese dos resultados e, acerca da discussão apresenta-se informações sobre a interpretação geral dos resultados, todas as limitações da evidência e dos processos de construção, incluídas na revisão e implicações dos resultados para a prática, política e investigação futura. No que se refere aos resultados dos estudos, importa-se destacar um tema relevante para discussão: *Técnicas eficazes em evidência para inatividade e indetecção de diferentes linhagens do SARS-CoV-2 e aspectos relevantes da biossegurança.*

Quadro 2 - Análise dos resultados e limitações/inclusões/implicações

Nº Artigo	Título	Resultados em destaque	Limitações/inclusões/implicações
1	<i>Assessment of inactivation procedures for SARS-CoV-2</i>	Todos os métodos de inativação química e térmica resultaram na redução de SARS-CoV-2 viável para níveis indetectáveis. Os isolados de vírus não tratados tinham uma concentração de vírus viável de até $6,67 \times 10^5$ (isolado 2310) antes do tratamento. Reagente: Químico (formaldeído). Temperatura e tempo de inativação: 56 e 98 °C (15 min)	A concordância e a sensibilidade mantida entre os resultados de RT-PCR, combinadas com o fato de que todos os métodos resultaram em 100 % de inativação do vírus até uma carga viral de 5 log 10, sugere que qualquer um dos métodos testados, exceto o formaldeído, é útil para inativar amostras de SARS-CoV-2.
2	<i>Methods of Inactivation of</i>	Foi estabelecido limites de detecção do vírus nas	Focou-se em testar os métodos de inativação com formaldeído e

	<i>SARS-CoV-2 for Downstream Biological Assays</i>	<p>amostras, depois foi usado colunas centrífugas para remoção de compostos citotóxicos permitindo um limite inferior de detecção para confirmar a inativação do vírus, posterior quantificação, purificação, inativação e análise. Ao final dos processos de purificação, não foi identificado o SARS-CoV-2.</p> <p>Reagente: Químico (formaldeído e metanol).</p> <p>Temperatura e tempo de inativação: respectivamente, 56 e 98 °C (15 min); e 80 °C (12 min)</p>	<p>metanol, sendo eficaz e efetivo.</p> <p>Apresentou amostras com presença de vírus ativo quando tratadas Tween 20, e após feito o processo pela segunda vez, teve êxito.</p>
3	Heat Inactivation of Different Types of SARS-CoV-2 Samples: What Protocols for Biosafety, Molecular Detection and Serological Diagnostics?	<p>Os três protocolos (Normas Europeias NF EN 14476-A2, Qiacube HT e o kit de extração de patógenos Cador) resultaram em uma clara diminuição da infectividade após o tratamento com um fator de redução igual ou superior a 5 Log 10. Reagente: Físico (calor)</p> <p>Temperatura e tempo de inativação: 56 °C - 30 min e 60 °C - 60 min.</p>	<p>O fato de que amostras inativadas pelo calor podem não ser adequadas para detecção de RNA viral devido à possível diminuição da sensibilidade e aumento do limite de detecção (LoD), com resultados falsos negativos esperados.</p>
4	<i>Potential False-Negative Nucleic Acid Testing Results for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 from Thermal Inactivation of</i>	<p>Valores aumentados de Ct em amostras de pacientes diagnosticados com COVID-19 em testes de RT-PCR após incubação térmica. Além disso, cerca de metade das amostras fracamente positivas (7 de 15 amostras, 46,7 %) foram negativas para RT-PCR após inativação por calor em pelo</p>	<p>O uso de lise à base de guanidínio para preservação dessas amostras teve um impacto menor nos resultados de RT-PCR com menos falsos negativos. Dada a aplicabilidade limitada associada aos inativadores químicos, outras abordagens para garantir a proteção geral do pessoal do</p>

	<i>Samples with Low Viral Loads</i>	<p>menos um teste paralelo.</p> <p>Reagente: Físico (calor).</p> <p>Temperatura e tempo de inativação: 56 °C - 30 min e 60 °C - 60 min.</p>	laboratório precisam ser consideradas.
5	<i>Evaluation of Chemical Protocols for Inactivating SARS-CoV-2 Infectious Samples</i>	<p>Os tampões VXL e ATL foram capazes de inativar SARS-CoV-2 com cargas virais tão altas quanto 10⁶ TCID 50/mL. A replicação do vírus não foi observada (CPE) nem avaliada pela detecção de RNA usando RT-qPCR. Reagente: Químico (GITC 50 %-70 %).</p> <p>Temperatura e tempo de inativação: 60 °C - 50 min e 70 °C - 40 min.</p>	O tampão AVL suplementado com etanol absoluto ou 1 % Triton X-100 resultou apenas em inativação parcial.
6	<i>Neutralizing SARS-CoV-2 by dimeric side chain-to-side chain cross-linked ACE2 peptide mimetics</i>	<p>O mimético dimérico de peptídeo ACE2 projetado tem uma afinidade de ligação de 16 nM para o RBD do pico de SARS-CoV-2 e inibe efetivamente o pseudovírus SARS-CoV-2 em células Huh7-hACE2 com um IC 50 de 190 nM e neutraliza o autêntico SARS-CoV-2 em Células Caco2 com um IC 50 de 2,4 µM. Reagente: Físico (calor).</p> <p>Temperatura e tempo de inativação: 56 °C - 30 min e 60 °C - 60 min.</p>	Nosso estudo deve fornecer uma nova visão para a otimização de inibidores anti-SARS-CoV-2 baseados em peptídeos.
7	<i>Inactivation of SARS-CoV-2 virus in saliva using a guanidium based transport medium suitable for RT-PCR diagnostic assays</i>	<p>O RNA do SARS-CoV-2 do vírus aumentou 5X o limite de detecção permaneceu positivo até 7 dias de incubação em todas as condições testadas. Reagente: Químico (tiocianato de guanidínio). Temperatura e</p>	A técnica de eNAT e meios semelhantes à base de tiocianato de guanidínio podem ser valiosos para transporte, estabilização e processamento de amostras clínicas para detecção de SARS-CoV-2 baseada em RT-PCR.

		tempo de inativação: 56 °C - 30 min e 60 °C - 60 min.	
8	<i>Heat inactivation of clinical COVID-19 samples on an industrial scale for low risk and efficient high-throughput qRT-PCR diagnostic testing</i>	Usando a inativação de calor em massa, o ensaio não depende mais de instalações e práticas de contenção de nível 2, o que reduz custos, melhora a segurança e a ergonomia do operador e torna o processo escalável. Reagente: Físico (calor). Temperatura e tempo de inativação: 60 °C - 60 min.	Protocolo de inativação por calor em massa inativa um substituto murino do SARS-CoV-2 humano.
9	<i>Analysis of Inactivation of SARS-CoV-2 by Specimen Transport Media, Nucleic Acid Extraction Reagents, Detergents, and Fixatives</i>	Em todos os casos, no entanto, ainda fomos capazes de aumentar os níveis de redução de título detectáveis em comparação com o que teria sido alcançado apenas pela diluição da amostra. Reagente: Químico (formaldeído). Temperatura e tempo de inativação: respectivamente, 56 e 98 °C (15 min);	Durante o teste de reagente, houve vários casos em que notamos citotoxicidade residual no eluato puro, o que é contrário ao que era esperado com base nos dados iniciais de remoção do reagente e é provavelmente devido ao período de incubação prolongado necessário para o teste de inativação (até 7 dias, comparado com a noite para avaliação de citotoxicidade).
10	<i>Development of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) thermal inactivation method with preservation of diagnostic sensitivity</i>	O tratamento térmico de amostras clínicas de pacientes com COVID-19 a 56 °C por 30 minutos ou 65 °C por 15 minutos pode ser um método útil para a inativação de um agente altamente contagioso, SARS-CoV-2. Reagente: Químico (formaldeído). Reagente: Químico (formaldeído). Temperatura e tempo de inativação: respectivamente, 56 e 98 °C (15 min);	Demonstramos a infectividade e a estabilidade genômica do SARSCoV-2 por inativação térmica a 56 °C e 65 °C. O uso deste método reduziria o potencial de infecções secundárias em condições de BSL2 durante procedimentos de diagnóstico.
11	<i>Thermal inactivation and</i>	Todos os 40 pacientes com COVID-19 apresentaram	A inativação por calor é uma ferramenta conveniente e fácil

	<i>nucleic acid amplification-based testing for SARS-CoV-2</i>	resultados Abbott positivos para SARS-CoV-2 usando amostras de swab nasais não inativadas, mas apenas 38 (95 %) resultados positivos [grupo I: 17/19 (89,5 %); grupo II: 21/21 (100 %)] usando amostras inativadas pelo calor, sem diferença estatística (P = 0,219). Reagente: Físico (calor) Temperatura e tempo de inativação: 60 °C - 60 min;	para abordar a questão da biossegurança ao usar o ensaio RealTime SARS-CoV-2 aprovado pela FDA (Abbott Molecular), que deve ser recomendado.
12	<i>Heat inactivation decreases the qualitative real-time RT-PCR detection rates of clinical samples with high cycle threshold values in COVID-19.</i>	Todas as 46 amostras de swab da garganta de 46 pacientes internados confirmados foram detectadas diretamente por RT-PCR qualitativa em tempo real, bem como após a inativação pelo calor. Reagente: Físico (calor). Temperatura e tempo de inativação: 90 °C - 20 min;	Os resultados indicam a urgência de se estabelecer um protocolo mais adequado para a inativação de amostras clínicas de COVID-19.
13	<i>Effects of Different Temperature and Time Durations of Virus Inactivation on Results of Real-time Fluorescence PCR Testing of COVID-19 Viruses</i>	Independentemente da temperatura e do tempo de inativação, 7 de 12 casos (58,3 %) testados foram positivos para SARS-CoV-2 por PCR e os valores de limiar de ciclo foram semelhantes. Reagente: Físico (calor). Temperatura e tempo de inativação: 65 °C por 10 min	Esses resultados sugerem que os parâmetros de inativação do vírus exercem influência mínima nos resultados do teste de PCR. A inativação a 65 °C por 10 min pode ser suficiente para garantir testes seguros e confiáveis.
14	<i>Influence of Different Inactivation Methods on Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Copy Number</i>	Comparado com a quantidade de RNA na amostra original, o tratamento com Trizol destruiu 47,54 % do gene da proteína do nucleocapsídeo (N) e 39,85 % do quadro de leitura aberta (ORF) 1ab. Para amostras tratadas a 56 °C por 30 min, o número de cópias do gene N e	A inativação reduziu a quantidade de RNA viral detectável e pode causar resultados falso-negativos, especialmente em casos fracamente positivos. Assim, o uso do reagente Trizol em vez de inativação por calor é recomendado para inativação da amostra,

		<p>ORF 1ab foi reduzido em 48,55 % e 56,40 %, respectivamente.</p> <p>Reagente: Químico (trizol)</p> <p>Temperatura e tempo de inativação: 56 °C por 30 min;</p>	
15	<p><i>The impacts of viral inactivating methods on quantitative RT-PCR for COVID-19</i></p>	<p>A: Amostra bruta não inativada; B: inativação de etanol a 75 %; C: 56 °C incubação por 30 min de inativação; D: 65 °C incubação por 10 min de inativação; E: Pré-inativação usando fluido de preservação especial do vírus RNA adicionado ao tubo de amostragem para tratar a amostra de swab nasofaríngeo separadamente, usando RT-PCR fluorescente em tempo real para detectar o gene N de COVID-19 e o gene ORF1ab simultaneamente. Reagente: Físico (calor). Temperatura e tempo de inativação: 90 °C por 20 min;</p>	<p>O tratamento de amostras de swab nasofaríngeo usando os quatro métodos inativados mencionados não teve efeito significativo na detecção subsequente do novo teste de ácido nucleico COVID-19.</p>
16	<p><i>Propagation, Inactivation, and Safety Testing of SARS-CoV-2</i></p>	<p>Relatar métodos usados para cultivar SARS-CoV-2 em várias linhagens celulares e para medir a infectividade do vírus por ensaio de placa usando agarose ou celulose microcristalina como sobreposição, bem como um ensaio de formação de foco específico para SARS-CoV-2. Reagente: Químico (trizol) e Físico (calor). Temperatura e tempo de inativação: 56 °C por 30 min; e 90 °C por 90 min.</p>	<p>Nestes dados demonstram que o tratamento térmico de amostras laboratoriais ou clínicas a 56 °C por uma hora servirá para inativar efetivamente o SARS-CoV-2. No entanto, foi relatado recentemente que o tratamento térmico de amostras clínicas, como soro, pode afetar negativamente a qualidade da amostra para processos a jusante.</p>

17	<i>Inactivation of coronaviruses by heat</i>	Um total de 10 estudos com dados originais foram encontrados. No geral, uma desinfecção térmica a 60 °C por 30 minutos, 65 °C por 15 minutos e 80 °C por 1 minuto foi eficaz para reduzir fortemente a infectividade do coronavírus em pelo menos 4 log 10. Reagente: Físico (calor). Temperatura e tempo de inativação: 60 °C por 30 minutos, 65 °C por 15 minutos e 80 °C por 1 minuto.	Não houve citação (revisão no Medline)
18	<i>Coronavirus disinfection in histopathology</i>	Esta nota técnica apresenta procedimentos de desinfecção e processos de histotecnologia que devem amenizar o risco de infecção para o pessoal do laboratório. Usando dados obtidos de coronavírus semelhantes, por exemplo, síndrome respiratória aguda grave (SARS) e síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), os especialistas estão confiantes de que 70 % de etanol e 0,1 % de hipoclorito de sódio devem inativar o vírus. Reagente: Químico (etanol; hipoclorito de sódio). Temperatura e tempo de inativação: 50 °C por 30 minutos.	Fixação de formalina e amostras de aquecimento a 56 °C, conforme usado no processamento de tecidos de rotina.
19	<i>Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents</i>	A análise de 22 estudos revela que os Coronavírus humanos, como o Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS), o coronavírus da Síndrome Respiratória do	Como não há terapias específicas disponíveis para o SARS-CoV-2, a contenção precoce e a prevenção de disseminação adicional serão cruciais para interromper o surto em andamento e controlar esse

		<p>Oriente Médio (MERS) ou os coronavírus humanos endêmicos (HCoV) podem persistir em superfícies inanimadas como metal, vidro ou plástico por até 9 dias, mas pode ser eficientemente inativado por procedimentos de desinfecção de superfície com 62-71 % de etanol, 0,5 % de peróxido de hidrogênio ou 0,1 % de hipoclorito de sódio em 1 minuto. Temperatura e tempo de inativação: 50 °C por 30 minutos; 70 °C por 20 min e 60 °C por 15 min.</p>	<p>novo segmento infeccioso. Não cita as fontes de busca dos artigos.</p>
--	--	--	---

Fonte: Autoria própria (2023)

5 DISCUSSÃO

Realizou-se a avaliação de 19 artigos das bases de dados *Pubmed* e *Web of Science*, sendo respectivamente 10 e 9 destes. O cruzamento das palavras chaves '*laboratory biosafety SARS-CoV-2*'; '*viral inactivation*'; '*physical agents*' e '*chemical agents*', estiveram presentes nas buscas, no entanto, o termo '*viral inactivation*' foi excluído em 14 deles.

Considerando os países que publicaram os estudos, houve destaque para a China, Reino Unido, França e Alemanha. Quanto ao ano com maior prevalência das publicações avaliadas, 2020 se deu destaque. Bem como, frente ao Qualis dos periódicos publicados, também demonstram que sua maioria pertencia á periódicos importantes na área de Biotecnologia, com os Qualis A1 (n=12) e A2 (n=1), o que comprova a qualidade dos artigos produzidos.

Quanto a análise dos resultados, sobressaltam estudos randomizados e cego, sendo encontrado apenas duas revisões acerca de diferentes técnicas de inativação do vírus SARS-CoV-2.

5.1 Técnicas eficazes em evidência para inatividade e indetecção de diferentes linhagens do SARS-CoV-2

Diante da situação emergencial da Covid-19 decretada pela Organização Mundial de Saúde – OMS, os serviços e laboratórios de análises em saúde necessitaram organizar procedimentos e protocolos de inativação e assepsia dos ambientes onde eram manipulados organismos de grande potencial de periculosidade ambiental, sendo utilizados como guia de Biossegurança para o enfrentamento do SARS-CoV-2. Tal procedimento foi necessário, haja vista que não se tinha conhecimento deste novo agente etiológico, principalmente devido sua rápida propagação e grande potencial de virulência, até que protocolos específicos fossem desenvolvidos por agencias de normatização para as especificidades do SARS-CoV-2 (ANVISA, 2020).

Diante deste fato, houve a necessidade da testagem de métodos consagrados de Biossegurança em ensaios clínicos, que comprovassem a eficácia de quais agentes físicos ou químicos seriam os mais adequados para a inativação do SARS-CoV-2, para um manuseio seguro, além do estudo das características que mitigassem

ao máximo possível os riscos para os agentes de saúde e pesquisa, que estariam na linha de frente manipulando as amostras biológicas que continham o vírus.

Amostras nasofaríngeas e orofaríngeas de SARS-CoV-2, foram submetidas a testes clínicos que tinham como objetivo avaliar qual o impacto da exposição do vírus ao calor úmido e para este estudo os autores elaboraram, protocolos para referendar a viabilidade do experimento. Durante o ensaio foi possível constatar que este agente físico de inativação demonstrou grande eficiência (DELPUECH *et al.*, 2022).

Kim *et al.*, (2020) também utilizaram calor como procedimento de inativação para o SARs-CoV-2 e os resultados corroboram com os apresentados pelos estudos de outros autores (DELPUECH *et al.*, 2022; WIDERA *et al.*, 2021; PASTORINO *et al.*, 2020b). Quando conservados com rigor, o tempo de exposição das amostras ao calor e, também o controle rígido da temperatura de exposição do vírus ao calor demonstraram que este agente físico de inativação pode ser uma alternativa bastante viável para laboratórios que possuem condições mais simples de instalação, e que não contam, por exemplo, com Cabines de Segurança Microbiológica – MSCs (PAWAR *et al.*, 2021).

Corroborando com estes dados, o estudo ressalta que o rigor de temperatura em 10 dos estudos analisados, revelaram que a inativação do vírus ocorre por desinfecção térmica a 60 °C por 30 minutos, 65 °C por 15 minutos e 80 °C por 1 minuto (KAMPF; VOSS; SCHEITHAUER, 2020; KIM *et al.*, 2020; PÉREÉ *et al.*, 2020).

No entanto, segundo Zou *et al.* (2020), que também avaliaram a inativação por calor na precisão da detecção de SARS-CoV-2 em amostras clínicas, observaram que, de 46 amostras de swab de garganta de pessoas internadas e diagnosticados com COVID-19, 13,04 % (6/46) das amostras positivas se tornaram negativas, 13,04 % (6/46) das amostras positivas foram ajustadas para suspeitas, e 6,52 % (3/46) das amostras suspeitas, passaram para negativas. Estes dados foram demonstrados com valores de temperatura inferiores a 56 °C.

Reafirmando esta limitação do estudo, temperaturas inferiores a 56 °C são insuficientes para desinfecção por tratamento térmico de amostras laboratoriais ou clínicas, enquanto a exposição á 56 °C por uma hora, apresentou resultados positivos para inativar efetivamente o SARS-CoV-2 (JUREKA; SILVAS; BASLER, 2020).

No que se refere as inativações químicas, muitas evidências demonstraram a inativação efetiva por Trizol, Formalina Tamponada Neutra a 10 % e Beta Propiolactona, sendo considerados efetivos na desinfecção em várias linhagens

celulares do vírus, assim como, na desapropriação do RNA, DNA e proteína de células infectadas (JUREKA; SILVAS; BASLER, 2020).

O estudo de Auerswald *et al.* (2021), discute estas questões relativas a laboratórios onde as condições de trabalho não atendem a todos os equipamentos que, em tese, seriam indicados para utilização em todo processo de análise das coletas das amostras biológicas contendo o SARS-CoV-2.

Da mesma forma, a utilização do agente físico calor também foi relatada como uma forma viável de trabalho para locais com pouca composição laboratorial, portanto esse tipo de procedimento é eficiente na inativação do vírus, o que simboliza menor ameaça de contaminação dos que trabalham na linha de frente (PATTERSON *et al.*, 2020).

Muitos agentes químicos e físicos de inativação viral já foram usados em ensaios clínicos para inativar o SARS-CoV-2 com base em protocolos adquiridos com outros vírus parecidos ao causador do COVID-19, como o vírus causador do MERS-CoV e/ ou outros "coronavírus geneticamente relacionados", de modo que os estudos de Welch *et al.* (2020) mostram que a eficácia desses agentes físicos e químicos requerem mais estudos específicos para SARS-CoV-2, para testar verdadeiramente a eficácia do uso de agentes como calor e feixes de luz UV, como certos tipos de reagentes químicos ou detergentes.

A revisão observou que as cepas efetivamente inativadas ocorreu por conta de um procedimento de desinfecção de superfície do ambiente de trabalho com 62–71 % de etanol, 0,5 % de peróxido de hidrogénio ou 0,1 % de hipoclorito de sódio por um período de tempo de 1 minuto. Outros agentes bactericidas, como cloreto de benzalcônio 0,05 - 0,2 % ou digluconato de clorexidina 0,02 % também apresentaram-se eficientes (KAMPF *et al.*, 2020; HENHOOD *et al.*, 2020). Além disso, segundo Patterson *et al.* (2020), o uso de metanol e paraformaldeído, apresentam-se como potentes agentes químicos, adequados para inativar células infectadas por SARS-CoV-2, fazendo com que se perca sua infectividade.

Wang *et al.*, (2020), compararam a eficiência de diferentes técnicas para inativar grupos do agente infeccioso, como a utilização de etanol 75 %; grupo que foi inativado a 56 °C; outro com incubação por 30 min de inativação; um seguido de incubação a 65 °C por 10 min de inativação, por fim, testaram um grupo com inativação prévia usando um fluido de conservação de vírus de RNA especial acrescentado ao duto de coleta para processar separadamente a amostra de swab

nasofaríngeo, usando RT-PCR fluorescente em tempo real para detectar simultaneamente o gene COVID-19 N e o gene ORF1ab e, finalmente, em comparação com o grupo controle (sem inativação). Os resultados demonstraram que quatro medicamentos descontinuados foram estatisticamente importantes em comparação com as amostras não declinantes ($P < 0,001$).

Assim, percebe-se que estudos têm discussões técnicas, em relação a diversos fatores físicos, sendo a temperatura acima de 56 °C eficaz para desinfecção e inativação de diferentes cepas para SARS-CoV-2, além de caracterizar testes aprovados com estatísticas importantes para amostras diluídas, e também nasofaríngeas, e no caso dos reagentes químicos, o trizol e o formaldeído foram os mais mencionados como eficazes.

5.2 Aspectos relevantes de biossegurança

Alguns aspectos importantes de biossegurança das substâncias utilizadas, como concentração e tempo de uso, foram levados em consideração. Estas, podem variar dependendo da concentração do vírus na amostra, e suas alterações podem afetar as tendências de desempenho necessários, determinadas independentemente dos agentes aplicados (WELCH *et al.*, 2020).

A literatura consultada salienta que o SARS-CoV-2 pode permanecer em ambientes em geral e especialmente em locais onde seria manuseado diretamente por tempo razoável, embora sua estrutura possa expor certa fragilidade para tais ambientes (PASTORINO *et al.*, 2020a; WIDERA *et al.*, 2021).

Dentre todos os artigos presentes nesta revisão preliminar, que mencionaram a importância do uso de Cabines de Segurança Biológica (BSC) para o manuseio do SARS-CoV-2, o trabalho de Pawar *et al.* (2021) realça esse equipamento como essencial para garantir a segurança efetiva durante o processo de manuseio do SARS-CoV-2 e avaliam quais desses equipamentos são mais adequados para uso em ensaios que visam diagnosticar e aprimorar a vigilância do COVID-19.

Estudos notáveis também exploraram a afinidade de ligação de peptídeos que poder neutralizar o vírus, ligando-se moléculas virais específicas para inativação, identificando inovações na clonagem celular e destacando sugestões para estudos adicionais (ZHANG *et al.*, 2022).

Este estudo apresentou restrições de busca na amostra, considerando apenas descritores como técnica de procura, portanto não é possível analisar mais artigos. Curiosamente, o *PubMed* foi aplicado como banco de dados, para reduzir a falta de dados confiáveis com demonstrações científicas de qualidade.

6 CONCLUSÃO

Foram evidenciados diferentes estudos e com testes de marcas diferentes, sendo os testes de marcas europeus, os mais citados e avaliados nos estudos. Dos estudos avaliados, apresentaram como agente físico principal, o calor para a inativação do vírus SARS-CoV-2.

Em relação aos agentes químicos, o trizol e o formaldeído sob diferentes concentrações foram os mais eficazes. Entre as duas técnicas, os agentes químicos foram mais evidenciados como eficazes, no entanto, cabe ressaltar que são os que apresentaram maiores custos.

Sugerem-se contínuas revisões sistemáticas para conhecer as fragilidades na área de Biossegurança, e de modo a refletir acerca do processo de implantação de protocolos seguros, e não somente por baixos custos nos serviços, mas sim, relevantes e necessários para o processo de trabalho.

REFERÊNCIAS

- WELCH, Stephen R. *et al.* Analysis of inactivation of SARS-CoV-2 by specimen transport media, nucleic acid extraction reagents, detergents, and fixatives. **Journal of clinical microbiology**, v. 58, n. 11, p. e01713-20, 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **Nota técnica n.51/2020/SEI/COSAN/GHCOS/DIRE3/ANVISA**. Desinfecção de pessoas em ambientes públicos e hospitais durante a pandemia de COVID-19. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/arquivos-noticias-anvisa/479json-file-1>. Acesso em: 06 out., 2022.
- AUERSWALD, Heidi *et al.* Assessment of inactivation procedures for SARS-CoV-2. **The Journal of General Virology**, v. 102, n. 3, 2021.
- BANIK, Sukalyani *et al.* Inactivation of SARS-CoV-2 virus in saliva using a guanidium based transport medium suitable for RT-PCR diagnostic assays. **PloS one**, v. 16, n. 6, p. e0252687, 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Biossegurança em saúde: prioridades e estratégias de ação** / Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 242 p., 2010. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/biosseguranca_saude_prioridades_estrategias_acao.pdf. Acesso em: 08 out., 2022.
- CHEN, Hailong *et al.* Influence of different inactivation methods on severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 RNA copy number. **Journal of clinical microbiology**, v. 58, n. 8, p. e00958-20, 2020..
- DELPUECH, Oona *et al.* Heat inactivation of clinical COVID-19 samples on an industrial scale for low risk and efficient high-throughput qRT-PCR diagnostic testing. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 2883, 2022.
- FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo). Conservação da biodiversidade está ligada à redução da pobreza, dizem cientistas. **Matéria**. Disponível em: <<https://agencia.fapesp.br/conservacao-da-biodiversidade-estreligada-a-reducao-da-pobreza-dizem-cientistas/39287/>>. Acesso em: 8 out. 2022.
- HENWOOD, Anthony F. Coronavirus disinfection in histopathology. **Journal of histotechnology**, v. 43, n. 2, p. 102-104, 2020.
- JUREKA, Alexander S.; SILVAS, Jesus A.; BASLER, Christopher F. Propagation, inactivation, and safety testing of SARS-CoV-2. **Viruses**, v. 12, n. 6, p. 622, 2020.
- KAMPF, Günter *et al.* Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. **Journal of hospital infection**, v. 104, n. 3, p. 246-251, 2020.
- KAMPF, Günter; VOSS, Andreas; SCHEITHAUER, Simone. Inactivation of coronaviruses by heat. **Journal of Hospital Infection**, v. 105, n. 2, p. 348-349, 2020.

KIM, Young-Il *et al.* Development of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) thermal inactivation method with preservation of diagnostic sensitivity. **Journal of Microbiology**, v. 58, p. 886-891, 2020.

LINDE, Klaus; WILLICH, Stefan N. How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. **Journal of the royal society of medicine**, v. 96, n. 1, p. 17-22, 2003.

PAN, Yang *et al.* Potential false-negative nucleic acid testing results for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 from thermal inactivation of samples with low viral loads. **Clinical chemistry**, v. 66, n. 6, p. 794-801, 2020.

PASTORINO, Boris *et al.* Evaluation of chemical protocols for inactivating SARS-CoV-2 infectious samples. **Viruses**, v. 12, n. 6, p. 624, 2020a.

PASTORINO, Boris *et al.* Heat inactivation of different types of SARS-CoV-2 samples: what protocols for biosafety, molecular detection and serological diagnostics?. **Viruses**, v. 12, n. 7, p. 735, 2020b.

PATTERSON, Edward I. *et al.* Methods of inactivation of SARS-CoV-2 for downstream biological assays. **The Journal of infectious diseases**, v. 222, n. 9, p. 1462-1467, 2020.

PAWAR, Shailesh D. *et al.* Selection and application of biological safety cabinets in diagnostic and research laboratories with special emphasis on COVID-19. **Review of Scientific Instruments**, v. 92, n. 8, p. 081401, 2021..

PENNA, G. Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE). **Ciência & Saúde Coletiva** [en linea].15(1), 3006-3007. ISSN: 1413-8123, 2010. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63019111001>. Acesso em: 04 out. 2022.

PÉRÉ, Hélène *et al.* Thermal inactivation and nucleic acid amplification-based testing for SARS-CoV-2. **Journal of Clinical Virology**, v. 131, p. 104588, 2020.

WANG, Yueying *et al.* The impacts of viral inactivating methods on quantitative RT-PCR for COVID-19. **Virus research**, v. 285, p. 197988, 2020.

WELCH, Stephen R. *et al.* Analysis of inactivation of SARS-CoV-2 by specimen transport media, nucleic acid extraction reagents, detergents, and fixatives. **Journal of clinical microbiology**, v. 58, n. 11, p. e01713-20, 2020.

WIDERA, Marek *et al.* Evaluation of stability and inactivation methods of SARS-CoV-2 in context of laboratory settings. **Medical microbiology and immunology**, v. 210, n. 4, p. 235-244, 2021.

WU, Ze-gang *et al.* Effects of different temperature and time durations of virus inactivation on results of real-time fluorescence PCR testing of COVID-19 viruses. **Current Medical Science**, v. 40, p. 614-617, 2020.

ZHANG, Yan-Ni *et al.* Neutralizing SARS-CoV-2 by dimeric side chain-to-side chain cross-linked ACE2 peptide mimetics. **Chemical Communications**, v. 58, n. 11, p. 1804-1807, 2022.

ZOU, Jingbo *et al.* Heat inactivation decreases the qualitative real-time RT-PCR detection rates of clinical samples with high cycle threshold values in COVID-19. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 98, n. 1, p. 115109, 2020.