



O ESTUDO DA EFICÁCIA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO NO COMBATE DO VIRUS EBOLA

THE EFFICACY OF SODIUM HYPOCHLORITE IN EBOLA VIRUS CONTROL

Silvia Stanica¹, Simone Maria Klok²

¹Acadêmica do curso de Biomedicina no Centro Universitário Campos de Andrade - Uniandrade, Curitiba, Brasil

²Professora Doutora do curso de Biomedicina no Centro Universitário Campos de Andrade - Uniandrade, Curitiba, Brasil
e-mail: mac.silvia@icloud.com

RESUMO

A doença do Vírus Ebola, anteriormente conhecida como Febre Hemorrágica, é uma doença grave em humanos causada pelo vírus EBOLA. O surto de EBOV de 2013 a março de 2016 tornou-se uma grande preocupação ao nível mundial devido ao fato de ter sido o maior deles registrado em seis nações da África Ocidental, incluindo Libéria, Serra Leoa e Guiné. Durante o surto de EVD em 2013 causado pela variante Makona, foi altamente recomendado o uso de soluções de cloro e álcool etílico 70% não somente para a lavagem das mãos como também para a maioria das atividades de desinfecção de objetos, dispositivos e áreas. As soluções de cloro utilizadas na resposta EVD são feitas principalmente de hipoclorito de cálcio em pó, dicloroisocianurato de sódio granular e hipoclorito de sódio líquido, e têm uma faixa de pH de 5-11. As soluções de cloro se degradam após uma reação altamente dependente e anormalmente sensível ao pH, temperatura e concentração. O álcool 70% deve ser considerado uma alternativa, pois mostrou uma inativação rápida do EBOV. Em contrapartida, os experimentos feitos com radiações ultravioletas, mostrou a sua ineficácia no combate ao EBOV. Este estudo de revisão bibliográfica trata da eficácia de diferentes agentes químicos e as suas concentrações no processo de desinfecção do vírus Ebola (as variantes Mayinga, Kikwit e Makona) comparados ao Hipoclorito de sódio.

Palavras-chave. Ebola, Hipoclorito de Sódio, descontaminação, desinfecção

Ebola Virus Disease (EVD), formerly known as Hemorrhagic Fever is a serious disease caused by Ebola Virus (EBOV). The EBOV outbreak from 2013 to March of 2016 became a major concern worldwide due to the fact that it was the largest recorded in six West African Nations including Liberia, Sierra Leone and Guinea. During the EVD outbreak in 2013 caused by Makona variant (EBOV/MAK), it was highly recommended the use of chlorine solutions and Ethyl alcohol 70% not only for handwashing but also for most disinfection activities of objects, devices and areas. The chlorine solutions used in the EVD response were mainly made of Calcium hypochlorite powder, granular Dischloroisocyanurate sodium and liquid Sodium hypochlorite with a pH that range from 5-11. Chlorine solution degrade after a highly dependent abnormally sensitive reaction to pH, temperature and concentration. 70% Ethylic Alcohol should be considered an alternative because it has shown a rapid inactivation of EBOV. In contrast, experiments made with Ultraviolet Radiation showed its ineffectiveness in combating the EBOV. This bibliographical review study is about the efficacy of different chemical agents and their concentrations in the Ebola Virus disinfection process (Mayinga, Kikwit and Makona Variants) compared to Sodium Hypochlorite.

Keywords. Ebola Sodium Hypochlorite, decontamination, dissemination

ABSTRACT



1. INTRODUÇÃO

O vírus Ebola (EBOV) foi identificado pela primeira vez no Zaire (atualmente República Democrática de Congo) em 1976. O surto ocorreu em uma vila chamada Yambuku perto do Rio Ebola, após o qual a doença (EVD) recebeu este mesmo nome. O pior surto de EVD começou na África Ocidental em 2013. Dois anos depois, casos esporádicos ainda ocorriam. O surto se alastrou por vários países como Guiné, Serra Leoa e Libéria.¹

Em janeiro de 2016 mais de 28.600 casos e mais de 11.300 mortos foram relatados pela Organização Mundial de Saúde.² O EBOV é geralmente transmitido de pessoa para pessoa através do contato direto, ou seja, contato com mucosa, sangue, fluidos corporais (por exemplo urina, saliva, suor, fezes, vomito, leite materno e sêmen) de uma pessoa contaminada, ou indiretamente através de objetos como agulhas e seringas que foram contaminadas com fluidos corporais de uma pessoa doente.³

Juntos com os outros filovírus, o EBOV é um vírus encapsulado, muitas vezes considerado frágil que pode ser inativado pelo uso de métodos físicos e químicos.⁴

O EBOV pode permanecer viável em sangue seco de 7 a 10 dias em condições climáticas da África Ocidental (28° C com uma umidade relativa de 90%).⁵ A variante Makona do EBOV continua viável por mais tempo do que a variante Mayinga. Apesar das condições de temperatura e umidade relativas, o comportamento da variante de Makona em relação aos métodos de inativação ou descontaminação é bastante diferente, apesar de ser aproximadamente 97% idêntica em nível de nucleotídeos às outras variantes de Zaire Ebola Vírus (Zebov).⁵

A presente revisão bibliográfica faz uma análise da desinfecção da variante Makona comparando-se as outras duas principais variantes do EBOV Mayinga e Kikwit com agentes químicos que são recomendados pela Organização Mundial de Saúde no processo de desinfecção do EBOV à temperatura média da África Ocidental.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo constitui uma revisão bibliográfica e analítica a respeito da eficácia de diferentes agentes físicos e químicos no combate

do vírus Ebola comparados ao Hipoclorito de sódio.

Os estudos científicos foram pesquisados utilizando-se a plataforma Google Acadêmico, Scientific Library Online (SciELO), National Library of Medicine (PubMed), ResearchGate e artigos científicos na área de saúde. Outras fontes como “Organização Mundial da Saúde” (OMS), e o “Centro de Controle de Doenças” (CDC) forneceram informações para este estudo.

Os critérios de inclusão foram: estudos científicos indexados em periódicos internacionais, publicados em inglês com texto completo no período de 2010 a 2020. Foram utilizadas as palavras chave: Hipoclorito de sódio, desinfecção, Ebola, derivados de cloro, agentes químicos, disseminação. Como critério de exclusão optou-se para não utilizar artigos publicados em língua portuguesa e artigos que não possuíam texto completo.

O estudo foi desenvolvido através de coleta de dados que se iniciou através de uma leitura preliminar, exploratória onde após o cumprimento dos critérios de exclusão foram pré-selecionados 36 artigos, 12 artigos foram utilizados na realização do presente estudo, dos quais compreendiam o contexto da busca. A partir de então foram realizadas a leitura e análise que foram apresentadas nos resultados e discussão deste estudo. Após leitura e análise dos artigos foram elaborados os resultados e discussão a respeito da eficácia do Hipoclorito de sódio no combate do vírus Ebola.

As tabelas e as figuras foram extraídas dos estudos científicos utilizados, a fim de comparar a eficácia do Hipoclorito de sódio a outros agentes químicos ou físicos no combate do EBOV.

2. RESULTADOS

Nos países endêmicos de EBOV, durante a epidemia, houve certas regras de não tocar nas pessoas (não abraçar, não beijar ou apertar a mão) para evitar um potencial transmissão fora das unidades de tratamento do EBOV. A abstenção de tocar o rosto e a lavagem das mãos eram incentivadas para reduzir o potencial de auto inoculação. De maneira coletiva, a logística de EPIs também foi necessária para proteger os profissionais de saúde.⁶

Entre os principais elementos de precaução padrão estão: higiene das mãos, avaliação de risco de EPIs adequados, higiene respiratória, proteção contra seringas e outros perfuro cortantes, gerenciamento adequado dos resíduos bem



como limpeza e desinfecção das superfícies e dos ambientes.⁷

Recomenda-se que o profissional de saúde que fornece cuidados a um paciente com EVD, utilize EPIs adequados. Entre as principais organizações que prestam cuidados aos pacientes com EVD, todas concordam que o profissional cuidador deve proteger uniformemente as principais entradas incluindo mucosas, membranas e a pele. As diretrizes do CDC, direcionadas ao uso de EPIs nos hospitais do EUA, recomendam luvas duplas, uma bata resistente a fluidos de uso único ou um avental impermeável, um respirador purificador de ar motorizado ou um respirador N95 (máscara facial). Se este último for usado, então deve ser acompanhado por um capuz cirúrgico de uso único que se estenda até os ombros e um escudo facial.^{6,7}

3.1 Radiações Ultravioletas (UV)

A suscetibilidade ao UV de qualquer micróbio é definida em termos de taxa de inativação do UV constante que é a curva logarítmica do declínio da população sob exposição UV. O modelo de genoma ultravioleta consiste em uma metodologia para ler o genoma completo e identificar aqueles pares de bases que tem um alto potencial de foto-dimerização. A foto-dimerização ocorre quando um fóton UV é absorvido por uma base e o fóton reage como uma base vizinha para produzir um dímero. O dímero inibe o mecanismo normal de reprodução do DNA ou RNA e, portanto, inativa o micróbio.⁸

Os dados do UV coletados no EBOV indicaram que a persistência do vírus corresponde a uma inativação de quase 2-Log_{10} , tornando a precisão da curva inicial menos precisa. O D37 da curva inicial, entretanto não era superior a 4J/m^2 . O valor D37 para EBOV seco foi mais baixo do que anteriormente previsto pela padronização ($7,4\text{J/m}^2$) indicando que o vírus Ebola pode ser sensível a radiação UV. A curva final indica um D37 de 17J/m^2 e a sua projeção para à incidência zero indica que cerca de 3% a 4% da população do vírus EBOV contribuiu para a fase de retomada da curva de sobrevivência.

O valor D37 é igual ao valor da curva no gráfico semi-logarítmico e corresponde a fluência UV que produziu em média um impacto letal sobre o vírus, resultando em uma sobrevivência de 37%. D37 pode ser calculado dividindo a taxa que resulta em uma redução de 1-Log_{10} na carga do vírus (como obtido da faixa

linear do gráfico) por 2.3 (a base logarítmica natural). Um valor inferior para o D37 indica uma maior sensibilidade à inativação pelos raios UV.

Na Figura 1 pode-se observar que a sobrevivência do EBOV (1.9×10^7 ufp/portador) é representada por quadrados que equivalem a uma média de 6 valores determinados pelo TCID₅₀. Os traços e as linhas as inclinações iniciais e finais da curva. A população protegida do vírus responsável pela inclinação final de inativação foi obtida pela projeção representada no gráfico pela linha pontilhada a uma fluência igual a 09.⁹

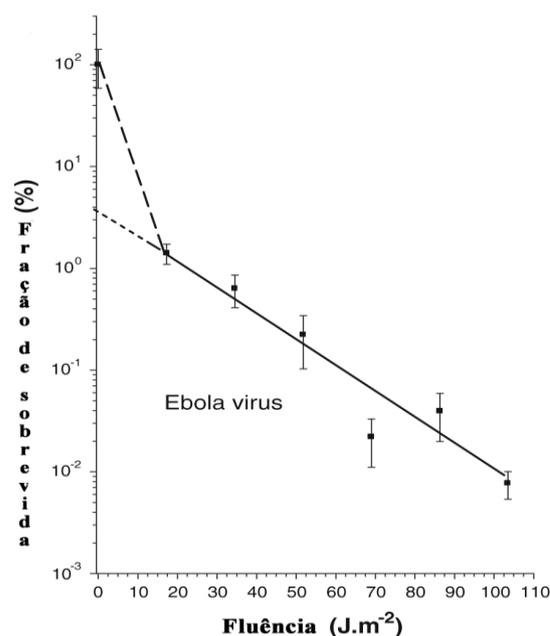


Figura 1 - Representação da sobrevivência do Vírus EBOV as radiações ultravioletas. A margem de erro sendo de 5%.⁸

3.2 Álcool Etilíco 70%

A ação desinfetante controlada em função do tempo pelo do álcool 70% foi testada com base em uma massa seca composta de matéria orgânica de solo e das variantes Zaire em meios de suporte de aço inoxidável a uma temperatura de 27°C e umidade relativa de ar de 30%. A mistura orgânica do solo assemelha-se a uma excreção corporal semelhante a um paciente grave de EVD. As variantes virais foram então comparadas novamente para entender as variações de cada uma em resposta ao tratamento químico. Quando tratados com uma concentração única de álcool (70%) por um período de contato de 1 a 10 minutos, Maynga e Kikwit foram totalmente neutralizados em 1 minuto de tempo de contato, porém os níveis detectáveis da variante Makona



sobreviveram após esse ponto em 2/9 em sequência de medição dando uma variação média de $0,6 \pm 0,9 \text{ Log}_{10} \text{ TCID}_{50}/\text{mL}$ por um minuto de tempo de desinfecção.⁵ Na Figura 2 percebe-se a eficácia do álcool 70% ao longo do tempo contra as variantes do vírus Ebola Mayinga, Kikwit e Makona. Para análise estatística Makona foi comparado ao Mayinga (verde) no determinado tempo de contato.⁵

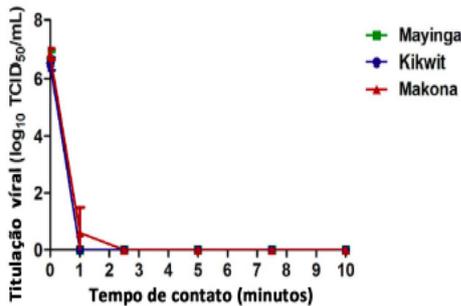


Figura 2 - Desinfecção das variantes do Vírus Ebola pelo uso do álcool 70%⁵ ao longo do tempo.

No caso de surtos do vírus DVE, é amplamente recomendado a lavagem dos organismos vivos (lavagem das mãos) com soluções de cloro de 0,05% e de organismos não vivos (superfícies, equipamentos de proteção individual, cadáveres) com soluções de cloro de 0,5%.⁵

Durante o surto de EBOV em 2014 três tipos de cloros estiveram disponíveis: o Hipoclorito de cálcio, o Discloroisocianurato de cálcio e Hipoclorito de Sódio.¹⁰

Para cada uma das soluções de cloro, a eficácia da desinfecção varia com base na concentração, o tempo de contato, a temperatura e a presença de material orgânico.¹¹

3.3 Hipoclorito de Cálcio

Os estudos determinaram que o hipoclorito de cálcio permaneceu estável por um período de 30 dias a uma temperatura de 25°-30°. O pH da amostra permaneceu relativamente estável. Quando usada uma amostra de solução de 0,05% o pH estabilizou-se em um valor 8. Para as soluções de 0,5%, a estabilização de pH mante-se entre 9-10 durante um período de 30 dias (gráfico e gráfico 4). O valor de pH desejado de 0,05% e 0,5% de soluções de cloro recomendadas para os contaminantes de EBOV no caso do Hipoclorito de cálcio é de 10-11.¹² Con-

forme apresentado nas Figuras 3 e 4 que apresentam a degradação do Hipoclorito de cálcio ao longo do tempo.

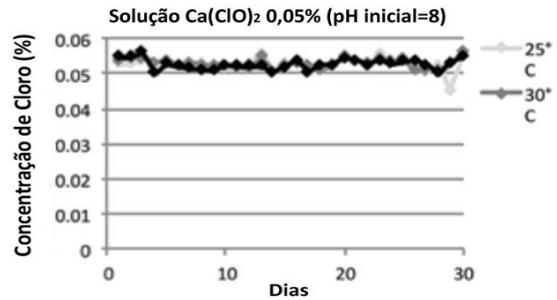


Figura 3 - Degradação das soluções de 0,05% de Hipoclorito de cálcio ao longo do tempo.¹²

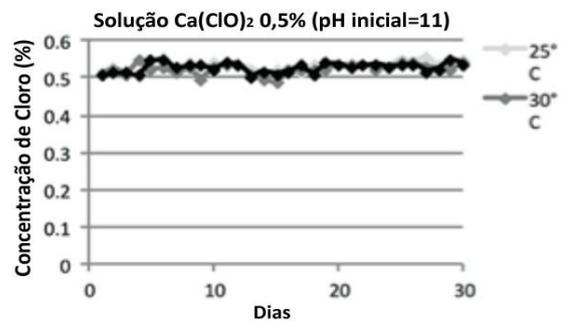


Figura 4 - Ressalta a degradação das soluções de 0,5% de Hipoclorito de cálcio ao longo do tempo.¹²

3.4 Discloroisocionurato de Cálcio

No caso das soluções Discloroisocionurato de cálcio de 0,05% e 0,5% as concentrações caíram constante. As soluções caíram para 90% da concentração inicial dentro de 3-6 dias após terem sido feitas, conforme as Figuras 5 e 6, que exibem a tendência de deterioração do NaDCC ao longo do tempo, possivelmente pelo impacto da emissão do ácido cianúrico que reduziu o pH da solução ao longo do teste.¹²

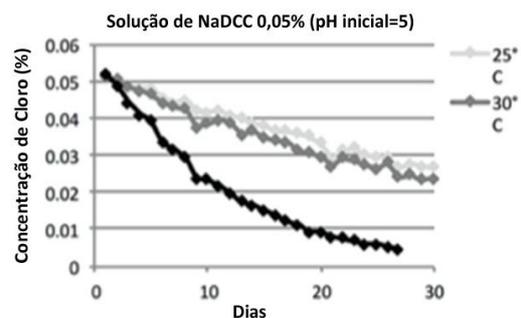


Figura 5 - Degradação das soluções de 0,05% de Discloroisocianurato de sódio - NaDCC ao longo do tempo.¹²

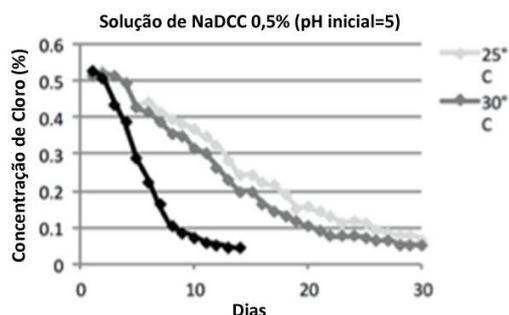


Figura 6 - Degradação das soluções de Disclorocianurato de sódio - NaDCC ao longo de tempo.¹²

3.5 Hipoclorito de Sódio

Cook em seu estudo, utilizou o Hipoclorito de sódio estabilizado, armazenado por 30 dias a uma temperatura de 25-35 C°.⁵

A concentração de hipoclorito de sódio a 0,05% apresentou diferenças em sua viabilidade na variante Makona quando comparado às variantes Mayinga e Kikwit. Através de uma abordagem de tempo específica para comparar a quantidade de Makona com a quantidade de Mayinga e Kikwit restante após tratamento, Makona teve títulos estatisticamente mais altos após um tratamento com Log₁₀ TCID₅₀/mL do que Mayinga. Nos tempos de contados especificados de 1 minuto (0,3 log₁₀, p<0,005); 5 minutos (0,5 log₁₀, p<0,05) e 10 minutos (0,8 log₁₀, p<0,05). Esse padrão também foi evidente para Makona em relação a Kikwit a 1 minuto (0,6 log₁₀, p<0,001); 2,5 minutos (0,6 log₁₀, p<0,1); 5 minutos (0,9 log₁₀, p<0,1); 7,5 minutos (0,8 log₁₀, p<0,05) e 10 minutos (1,1 log₁₀, p<0,001), conforme apresentado na Figura 7.

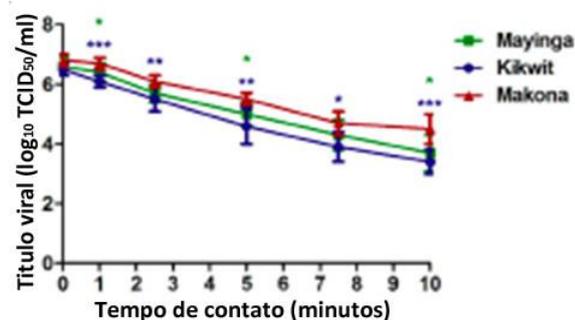


Figura 7 - Desinfecção das variantes do Vírus Ebola com 0,05% de solução de Hipoclorito de sódio ao longo do tempo.⁵

A solução de Hipoclorito de sódio de 0.05% não conseguiu inativar completamente

nenhuma das variantes⁵. A concentração de Hipoclorito de Sódio a 0,5% resultou em diminuições bruscas nos títulos de EBOV para todas as variantes. Quando a solução de 0,5% de Hipoclorito de sódio foi aplicada, as diferenças de título foram discretas, em 1 min (0,7 log₁₀, p<0,001) e 2,5 minutos (0,1 log₁₀ pouco expressivo) para a Makona comparada à Mayinga. As diferenças de título foram 1 minuto (0,2 log₁₀ pouco expressivo) e 2, 5 minutos (0,1 log₁₀ pouco expressivo) para a Makona comparada à Kikwit. Todas as variantes foram inativadas em 5 minutos de contato, conforme Figura 8.

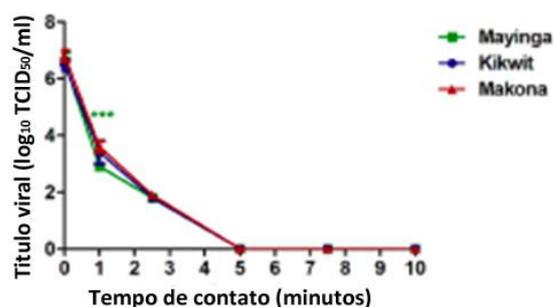


Figura 8 - Desinfecção das variantes do vírus Ebola com 0,5% de soluções ao longo do tempo.⁵

4. DISCUSSÃO

4.1. Radiação ultravioleta

Embora a população viral resistente ao UV corresponda a uma fração relativamente pequena (10% ou menos) de vírus em sangue seco e superfícies, este fato pode ser alto em números totais, causando um risco sério para a saúde humana dentro de um ambiente contaminado. Os resultados devem ajudar a prever o período de tempo em que o vírus permanece uma ameaça a saúde humana, após a transmissão.⁸

4.2 Álcool Etilico 70%

O álcool 70% deve ser considerado uma alternativa, pois mostrou uma inativação rápida do EBOV. Cabe ressaltar que embora o álcool 70% tenha sido eficiente na inativação do EBOV após 1 minuto de contato, a variante Makona ainda continuava viável em 2/9 replicações. Juntando esses dados pode-se observar que a Makona pode ser um pouco mais resistente do que Mayinga e Kikwit, no entanto esse resultado não é estatisticamente significativo. O álcool 70%, seria mais adequado para lavagem das mãos.⁵

4.3 Soluções de cloro



Pesquisas revelaram que diferentes composições químicas das soluções de cloro, tem impactos variáveis sobre o prazo de validade da solução. As soluções de NaDCC tendo um prazo de validade mais curto, enquanto as soluções de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e NaClO mais longo. Em um ambiente onde as soluções podem ser feitas continuamente e armazenadas por um período de tempo mais longo, recomenda-se o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e NaClO estabilizado. A Tabela 1 apresenta o prazo de validade e as condições ideais de armazenamento.¹²

Os testes de 0,05% e 0,5% de soluções de cloro são recomendados para garantir a precisão,

particularmente quando as soluções não são feitas continuamente ou diariamente. A limpeza das superfícies com soluções de 0,5% com tempo de exposição de 15 minutos é eficaz para reduzir o risco de transmissão (o que não ocorre em doses mais baixas).¹¹

A Tabela 1 apresenta o prazo de validade e as condições ideais de armazenamento, a Tabela 2 apresenta comparativo das soluções a base de cloro em relação ao transporte e as características físico-químicas destas soluções.

Tabela 1 - Recomendações de prazos de validade, condições ideais de produção e armazenamento

PRODUTO	CONCENTRAÇÃO	Prazo de validade recomendado
NaDCC	0,05%	2 dias
	0,5%	2 dias
$\text{Ca}(\text{OCl})_2$	0,05%	>30 dias
	0,5%	>30 dias
NaClO estabilizado	0,05%	>30 dias
	0,5%	>30 dias

*Acrônimos NaDCC Discloroisocianurato de sódio, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ Hipoclorito de cálcio, NaClO Hipoclorito de sódio

**Iqbal Q, Lubeck-Schricker M, Wells E, Wolfe MK, Lantagne D. Shelf-life of Chlorine Solutions Recommended in Ebola Virus Disease Response.

Tabela 2 - Comparativo das soluções a base de cloro.

	$\text{Ca}(\text{ClO})_2$	NaDCC	NaClO
Vantagens	Fácil transporte Alta concentração Validade 3-5 anos Validade 30 dias após diluído	Fácil transporte Alta concentração Validade 3-5 anos Não obstrui as tubulações	Pode ser diluído no local Validade superior a 30 dias após diluído Melhor custo benefício Não obstrui as tubulações
Desvantagens	Pode ser explosivo Pode obstruir as tubulações	Validade de 2 dias após diluído	Difícil de transportar (pesado)
Custo	3,68 USD/Kg	5,19 USD/Kg	1,99 USD/Kg

*Valor praticado na África de Sul – Fonte: Chemlab supplies

** Iqbal Q, Lubeck-Schricker M, Wells E, Wolfe MK, Lantagne D. Shelf-life of Chlorine Solutions Recommended in Ebola Virus Disease Response

O prazo de validade não é o único critério de seleção do tipo de cloro, pois cada tipo de cloro tem benefícios e desvantagens na sua implementação. Discloroisocianurato de sódio é o Hipoclorito de cálcio são produtos em pó de alta concentração fáceis de transportar com prazos de validade de 3- 5 anos. O Discloroisocianurato de sódio tem benefícios sobre o Hipoclorito de cálcio é menos explosivo e não obstrui as tubulações.

O Hipoclorito de sódio estabilizado tem o benefício de pode ser produzido no local, a validade após sua diluição é superior a 30 dias, não obstrui as tubulações e tem o melhor custo. As únicas desvantagens que o Hipoclorito de sódio apresenta é que ele é um produto pesado para transporte^{5, 11, 12}. A Tabela 2 apresenta um comparativo das vantagens e desvantagens das soluções a base de cloro usadas em uma epidemia de EBOV.



5. CONCLUSÃO

Em ambiente de surto com infraestrutura precária, métodos mais simples são provavelmente mais vantajosos. Pode-se verificar com esse estudo que o Hipoclorito de sódio no combate do vírus EBOV é o produto mais adequado. Foi aqui considerado seu custo benefício, praticidade de manejo com diluição no próprio local da descontaminação, bem como o fato de não obstruir as tubulações. Levando-se em consideração que a África do Sul tem poucos recursos para o controle da disseminação desse vírus, o Hipoclorito de sódio parece ser um agente descontaminante bastante interessante.

6. REFERÊNCIAS

1. Rewar S, Mirdha D. Transmission of Ebola virus disease: An overview. *Annals of Global Health*. 2014;
2. Who – Ebola Report Guideline June 2016 -accessed 28.04/2020;
3. Weber DJ, Sickbert-Bennett EE, Kanamori H, Rutala WA. New and emerging infectious diseases (Ebola, Middle Eastern respiratory syndrome coronavirus, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Candida auris*): Focus on environmental survival and germicide susceptibility. *American Journal of Infection Control*. 2019;
4. Smither S, Phelps A, Eastaugh L, Ngugi S, O'Brien L, Dutch A, et al. Effectiveness of four disinfectants against ebola virus on different materials. *Viruses*. 2016;8(7);
5. Cook BWM, Cutts TA, Nikiforuk AM, Leung A, Kobasa D, Theriault SS. The Disinfection Characteristics of Ebola Virus Outbreak Variants. *Sci Rep [Internet]*.2016;6(1):38293.
6. Fischer WA, Weber DJ, Wohl DA. Personal Protective Equipment: Protecting Health Care Providers in an Ebola Outbreak. *Clin Ther*. 2015;
7. CDC- Recommendations for hospitalized patients under investigations (PUIs) for Ebola Virus Diseases (EVD) in U.S Hospitals. Accessed 08.08.2020;
8. Wladyslaw JK. Ultraviolet Genomic Modeling Current Research Applications. Conference IOV, IUVA World Congress and Exhibition -Paris France 2011;
9. Sagripanti JL, Lytle CD. Sensitivity to ultraviolet radiation of Lassa, vaccinia, and Ebola viruses dried on surfaces. *Arch Virol*. 2011;
10. Gallandat K, Wolfe MK, Lantagne D. Surface Cleaning and Disinfection: Efficacy Assessment of Four Chlorine Types Using *Escherichia coli* and the Ebola Surrogate Phi6. *Environ Sci Technol*. 2017;
11. Wells E, Wolfe MK, Murray A, Lantagne D. Accuracy, precision, ease-of-use, and cost of methods to test ebola-relevant chlorine solutions. *PLoS One*. 2016;
12. Iqbal Q, Lubeck-Schricker M, Wells E, Wolfe MK, Lantagne D. Shelf-life of chlorine solutions recommended in Ebola virus disease response. *PLoS One*. 2016;