

## A RADIAÇÃO IONIZANTE COMO TECNOLOGIA PARA A INATIVAÇÃO DE VÍRUS

### IONIZING RADIATION AS A TECHNOLOGY FOR VIRUS INACTIVATION

Márcio Martins de Araujo<sup>1\*</sup>; Daili A. S. Barreira<sup>1</sup>; Susyleide Gomes de Brito<sup>1</sup>; Paulo de Souza Santos<sup>1</sup>; Sueli Ivone Borrelly<sup>1</sup>; Pablo Vasquez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/USP, São Paulo, Brasil

\*Autor correspondente: Centro de Biotecnologia - Avenida Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária, São Paulo, SP, CEP 05508-000 /Celular: (11) 979890490  
e-mail: marcio\_araujo@usp.br

#### RESUMO

Encontrar meios acessíveis e eficientes para inativação de patógenos, e, assim diminuir as consequências maléficas destes para a população, é uma questão que desafia os gestores públicos e a comunidade científica. Diante disso, nosso objetivo foi realizar uma revisão narrativa sobre o histórico do uso da radiação ionizante como tecnologia para inativação viral. Para isso, foram utilizados artigos disponíveis no Google Acadêmico, Scielo, PubMed e Periódicos da CAPES totalizando 35 artigos entre os anos de 1971 e 2022. A radiação ionizante é um método físico que destrói os ácidos nucleicos e inibi a replicação viral, mantendo sua imunogenicidade, sem requerer todas as etapas necessárias para desintoxicar as culturas provenientes de processos químicos, o que facilita o manuseio de antígenos em laboratório de segurança nível 2. Observamos que doses distintas para cada vírus dependente de condições relacionadas ao preparo da amostra, temperatura, umidade, falta de oxigênio, taxa da dose e penetração (estado físico do material); e também ao próprio vírus, como por exemplo o tamanho genômico. A radiorresistência presente nos vírus e esporos bacterianos também foi um fator relevante observado na literatura quanto a esterilização de materiais hospitalares por afetar algumas estruturas poliméricas do polipropileno em máscaras descartáveis, cuja a solução adotada foi a utilização da radiação não ionizante dependente do tempo, a ultra-violeta (UV – C). Portanto, apesar de ser um método mais custoso, a praticidade do processo que é contínuo, sem residual e a segurança promovida pela não lisura da embalagem, permite a competitividade da radiação ionizante frente aos métodos existentes tanto na esterilização de insumos quanto para produção de vacinas através da inativação viral.

**Palavras-chave:** Dose de Radiação; Esterilização; Microrganismos; Vírus.

#### ABSTRACT

Finding available and efficient means of inactivating pathogens and thus reducing their harmful consequences for the population is a question that challenges public managers and the scientific community. Therefore, our objective was to perform a narrative review on the history of the use of ionizing radiation as a technology for viral inactivation. We used articles from Google Scholar, Scielo, PubMed, and CAPES journals, totaling 34 articles between 1971 and 2022. Ionizing radiation is a physical method that will destroy nucleic acids and inhibit viral replication while maintaining its immunogenicity without requiring all the steps necessary to detoxify the cultures from chemical processes, which facilitates the handling of antigens in a level 2 safety laboratory. We observed different doses for each virus depending on conditions related to sample preparation, temperature,

humidity, lack of oxygen, dose rate and penetration (physical state of the material), and, the virus itself, such as genomic size. The radioresistance found in viruses and bacterial spores was also relevant factor in the literature. Regarding the sterilization of hospital materials by affecting some polymeric structures of polypropylene in disposable masks, whose solution adopted was the use of non-ionizing time-dependent radiation, the ultraviolet (UV - C). Therefore, despite being a more costly method, the practicality of the process, which is continuous, without residuals, and the safety promoted by the non-smooth packaging, allow the competitiveness of ionizing radiation against existing methods both in the sterilization of supplies and in the production of vaccines through viral inactivation.

**Keywords:** Radiation Dose; Sterilization; Microorganisms; Virus.

## INTRODUÇÃO

Os benefícios do processamento por radiação ionizante ou irradiação estão presentes na esterilização de produtos médicos descartáveis, próteses, cosméticos, meios de cultura, bancos de tecidos biológicos, vacinas, produtos alimentícios e desinfestação de obras de arte. A exposição de materiais à radiação ionizante pode provocar a indução de radioatividade, a qual pode ocorrer se a energia de radiação incidente ultrapassar 12 MeV, portanto, o uso de energias de radiação acima de 10 MeV é proibido para esterilização. Na prática, somente raios gama produzidos pelo cobalto 60, os quais possuem níveis energéticos entre 1,17 MeV e 1,33 MeV, e feixes de elétrons acelerados com energias entre 8 MeV e 10 MeV são usados <sup>(1)</sup>. O poder de penetração do feixe de elétrons é menor do que os raios gama provindos do 60-Co, por exemplo, para um material com densidade de 1g/cm<sup>3</sup> (semelhante à da água) o poder de penetração de um feixe de elétrons com energia de 10 MeV é de 5cm, enquanto que os raios gama com energia média de 1,25 MeV é de cerca de 50cm <sup>(2)</sup>. Uma vantagem importante do processamento de materiais por radiação ionizante é a possibilidade de esterilizar os itens em suas próprias embalagens, submetendo a uma quantidade controlada de radiação, denominada dose absorvida, por um tempo pré-fixado e com objetivos bem determinados. O processo de irradiação é influenciado pela temperatura, umidade e tensão de oxigênio do meio, assim como pelo estado físico do material a ser irradiado. Assim, cada produto a ser irradiado deve ser estudado e devem ser estabelecidos procedimentos específicos, relacionados principalmente às doses de radiação <sup>(3)</sup>. Geralmente, nos irradiadores gama podem ser tratados objetos com diversas geometrias e tamanhos enquanto nos aceleradores de elétrons precisa-se de geometrias e densidade preestabelecidas.

O processo para a determinação da dose de esterilização de um determinado produto deve estabelecer a dose mínima necessária para atingir o nível de garantia de esterilidade (SAL) definido previamente. Segundo a norma ISO 11137, a dose necessária para a redução da carga microbiana depende da contaminação microbiana inicial (UFC, bioburden, etc.) e esta deverá ser ajustada para cada situação. Quando uma população de microrganismos é exposta a uma dose de radiação, a fração de sobrevivência destes é inversamente proporcional à dose absorvida pelo material irradiado <sup>(4)</sup>. Quando o SAL é definido no nível de 10<sup>-6</sup>, significa que a probabilidade de entrar contaminação microbiológica é de um em milhão e comumente se aplica a insumos médicos e hospitalares. Para diferentes espécies de microrganismos são estabelecidos valores de D<sub>10</sub>, que representa a dose de

radiação necessária para inativar 90% da população, ou seja, é a dose de radiação necessária para reduzir a população microbiana a um décimo do seu número inicial <sup>(5)</sup>.

Para maioria dos microrganismos, a sensibilidade à radiação (radiossensibilidade) é inversamente proporcional ao tamanho e complexidade da célula/organismo. Os vírus têm genomas relativamente pequenos, resultando em sua maior resistência à irradiação. Em geral, os vírus são menos suscetíveis à radiação, necessitando doses mais elevadas <sup>(6)</sup>.

Sullivan *et al.* submeteram 30 tipos de vírus ao processo com radiação ionizante e conseguiram 90% de inativação nas amostras com doses que variam de 3,9 a 5,3 kGy <sup>(7)</sup>. O desenvolvimento de vacinas experimentais, contra várias doenças virais, utilizando radiação ionizante datam da década de 1970. Todavia, a maior disponibilidade de irradiadores, bem como a necessidade de controle de contaminações vem levando a importantes avanços e múltiplas aplicações da tecnologia das radiações.

Os estudos que envolvem vírus e microrganismos com elevado potencial de transmissão de doenças (patogênicos) exigem cuidados essenciais em termos de segurança ao trabalhador e ao público, devendo ser cumpridos os critérios de biossegurança. Assim, as atividades laboratoriais de pesquisa e produção que utilizam material biológico exigem Níveis de Biossegurança (BSL) designados em ordem crescente, segundo o grau de proteção, e de acordo com as exigências apresentadas no Quadro 1 <sup>(8)</sup>.

**Quadro 1** - Requisitos para os níveis de biossegurança em laboratórios (Biosafety level)

Nível de biossegurança	Tipo de laboratório	Exigências
<b>Básico – BSL 1</b>	Laboratórios básicos de ensino e pesquisa.	Uso de jalecos, luvas e óculos protetores quando necessário, deve possuir mesa/bancada de trabalho.
<b>Básico – BSL 2</b>	Laboratórios clínicos; laboratórios de serviços de diagnósticos e pesquisa.	Sinalização de perigo biológico, bancada de trabalho e câmaras de segurança para aerossóis potenciais.
<b>Contenção – BSL 3</b>	Laboratórios de diagnóstico e pesquisas especiais.	Roupa especial, acesso controlado, ventilação dirigida e câmaras de segurança biológica.
<b>Contenção máxima – BSL 4</b>	Unidades de agentes patogênicos perigosos.	Entrada hermética, saída com ducha para eliminação especial de resíduos, câmara de segurança de pressão positiva, autoclave, duas portas (através da parede) e ar filtrado.

Adaptado de OMS (2004).

Essa técnica de inativação é realizada fora da contenção laboratorial, contudo a adição de um composto de amônio quaternário ao redor das amostras durante o transporte fornece segurança sem alterar a dose necessária para atingir o SAL <sup>(9)</sup>.

Dessa maneira o presente trabalho teve como objetivo analisar o histórico do uso da radiação ionizante para inativação de vírus. Trata-se de um estudo de revisão narrativa da literatura, na qual se realizou uma consulta nas bases de dados do Google Acadêmico, Scielo, PubMed e Periódicos CAPES, nos idiomas inglês e português, abrangendo artigos publicados de 1971 a 2022 dos quais os descritores utilizados foram: inativação viral, radiação ionizante e esterilização. Os 34 artigos selecionados consideravam os efeitos químicos, físicos e estruturais ocasionados pela radiação.

## INATIVAÇÃO DE VÍRUS POR RADIAÇÃO IONIZANTE

Na Tabela 1 são apresentados os principais resultados dos trabalhos de Nims *et al.*; Hewitt *et al.* e Abolaban e Djouider, onde constam os dados de algumas famílias de vírus quanto à eficácia da

radiação gama a partir de estudos de dose/resposta à inativação viral utilizando como referência os valores de  $D_{10}^{(10,5,11)}$ .

**Tabela 1** - Eficácia da irradiação gama a partir de estudos de dose/resposta à inativação viral

Vírus	Família	Morfologia	Envelope	Tamanho (nm)	Genoma (kb)	Estrutura (Fita do DNA)	D10 (kGy)	Redução Log 10 (kGy)
IBR	Herpesviridae	Esférico	sim	100-120	120-230	DNA – dupla	3,22	0,310
APV	Poxviridae	Oval	sim	240-300	130-260	DNA – dupla	2,20	0,456
PI3	Paramyxoviridae	Esférico	sim	100-200	13-19	RNA -simples	4,78	0,209
CAV	Adenovirus	Icosaédrico	não	70-90	7-30	DNA – dupla	4,92	0,203
REO	Reovirus	Icosaédrico	não	60-80	4-27	RNA – dupla	5,15	0,194
BVDV	Flaviviridae	Icosaédrico	sim	50-70	9-13	RNA – simples	5,05	0,198
SARS-CoV 2	Coronaviridae	Esférico	sim	20-25	26-32	RNA -simples	1,60	0,625
BEFV	Rhabdoviridae	Hemielipsoide	sim	75x150	10-16	RNA – simples	2,94	0,340
Akabane	Bunyaviridae	Esférico	sim	80-120	11-23	RNA – simples	2,50	0,400
Aino	Bunyaviridae	Esférico	sim	80-120	11-23	RNA – simples	3,45	0,290
PPV	Parvovirus	Icosaédrico	não	18-24	3-6	DNA – simples	18,18	0,055

IBR (Rinotraqueíte infecciosa - bovina); APV (Avipoxivirus); CAV (hepatite infecciosa - canina); PI3 (Parainfluenza - bovina-3); BVDV (Diarreia viral - bovina); BEFV (vírus da febre efêmera, em bovinos).

A função de uma vacina é ativar uma resposta imunológica no organismo, reação antígeno-anti-corpo. As vacinas com vírus inativados podem ser produzidas a partir da inativação do microrganismo por calor, empregando produtos químicos ou por radiação. Com relação ao uso da radiação ionizante para a produção de vacinas, alguns estudos merecem destaque. Ao avaliarem processos distintos para a inativação do vírus da raiva, Wiktor *et al.* obtiveram elevada eficiência com a radiação gama, valor antigênico de 92% em relação aos agentes químicos  $\beta$ -propiolactona e acetilenoimina<sup>(12)</sup>. A fim de obter uma vacina geneticamente modificada com o vírus do HIV-1, Kang e Gao, empregaram método misto para inativação viral, com aldritiol-2 (química) e com radiação gama (física) e com uma dose de 30kGy<sup>(13)</sup>. Em ensaios clínicos o produto foi capaz de estimular a produção de anticorpos, resultado promissor para uma vacina profilática segura. Outros autores com pesquisas relacionadas aos vírus: Influenza A<sup>(14)</sup>, Poliomielite<sup>(15)</sup>, SARS-CoV-2<sup>(16)</sup>.

A praticidade da técnica e a eliminação de processos posteriores para desintoxicar as culturas de vírus, faz com que a radiação seja um método físico de inativação viável e que preserva os antígenos

virais para desencadear a imunogenicidade enquanto destrói os ácidos nucleicos para inibir a replicação viral em células humanas<sup>(17)</sup>.

As doses de radiação indicadas para reduzir a carga viral de HIV-1 em 1 log<sub>10</sub> (valor D<sub>10</sub>) variaram de 4 kGy a 5,6 kGy. Pruss *et al.* irradiaram amostras a -30°C e determinaram os valores para D<sub>10</sub> de 7,1 kGy e 7,3 kGy para o HIV-2 e para o parvovírus bovino<sup>(18)</sup>. A exemplo de Seo e colaboradores, que revisou 158 estudos para propor a tecnologia das radiações na produção de vacinas<sup>(19)</sup>.

O genoma viral é protegido por um envelope externo adicional. Ao contrário das bactérias, os vírus não possuem organelas celulares e, portanto, não têm atividades metabólicas para sua replicação, dependendo das funções celulares do seu hospedeiro<sup>(11,20)</sup>.

Desse modo, a escolha de um método de inativação preservando a integridade do epítipo viral é importante, uma vez que o dano da proteína do envelope diminuirá a eficácia da vacina<sup>(21)</sup>. Delrue *et al.* constataram que alguns processos químicos envolvidos na inativação viral por formaldeído, peróxido de hidrogênio ou derivados binários de etilenimina não são seletivos e podem danificar a proteína do envelope, levando a uma resposta imunológica deficiente<sup>(22)</sup>.

Tobin *et al.* utilizando um complexo antioxidante de decaptídeo de manganês, derivado da bactéria radiorresistente *Deinococcus radiodurans*, observaram que na dose de 45kGy houve proteção das proteínas do capsídeo viral do dano oxidativo induzido pela radiação exceto o RNA genômico viral em Picornavírus, demonstrando completa inativação do vírus da Poliomielite. Em contraste, a degradação completa dos epítopos de superfície foi constatada de maneira dependente da dose<sup>(15)</sup>. Boudarkov *et al.* buscaram inativar o vírus da peste suína africana, composto por uma dupla fita de DNA e pertencente à família Asfaviridae, empregando a radiação gama. Em seus resultados, as doses de 20 a 30kGy foram eficazes na obtenção de soros hiperimunes capazes de serem empregados eficientemente em distintas aplicações<sup>(23)</sup>.

O uso de doses de radiação adequadas deve garantir o emprego seguro da tecnologia das radiações para a produção de vacinas. A preservação da integridade conformacional das proteínas virais é um fator crítico para manter a imunogenicidade e preparação da vacina. Por essas razões, nenhuma vacina inativada por irradiação para vírus patogênicos foi ainda aprovada para uso humano, apenas em ensaios clínicos de fase III<sup>(24,19)</sup>. É possível atenuar os efeitos da radiação num determinado material biológico, realizando o processo de irradiação a temperaturas baixas (0C, -70C, etc.).

As principais lesões induzidas por radiação ionizante em ácidos nucleicos intracelulares são: danos químicos, conferidos às bases purina e pirimidina e ao açúcar desoxirribose; e um dano físico-químico resultando em quebra de fita simples ou dupla. Os vírus de fita simples são mais sensíveis à irradiação do que os vírus de fita dupla, apesar de seu genoma menor e mais simples. Os vírus de fita simples são homogêneos em relação à sua radiosensibilidade e a inativação não provoca um dano cumulativo. Embora a quebra da fita seja uma causa importante de inativação para vírus de fita simples, a combinação de dano à base e formação de reticulação intrafita é mais relevante<sup>(5)</sup>.

O mecanismo de inativação de um vírus por radiação gama obedece aos princípios básicos dos efeitos biológicos das radiações, isto é, mediante uma ação direta e uma ação indireta. A ação direta das radiações ionizantes na inativação viral é causada pela quebra da cadeia de uma biomolécula (clivagem radiolítica) e em menor grau as proteínas e envelopes virais. Os efeitos indiretos da radiação ionizante são atribuídos ao processo de radiólise, devido à obtenção de espécies químicas difusíveis

e reativas (radicais livres do tipo hidroxila e compostos do oxigênio) que potencializam os danos e reagem com os ácidos nucleicos virais além das proteínas <sup>(25, 9)</sup>.

Feldmann *et al.* mostraram que a inativação foi inversamente correlacionada com o tamanho do genoma. Eles determinaram as doses de radiação necessárias para uma redução de 6 log<sub>10</sub> com a adição de um fator de segurança de 2 e encontraram que 20 kGy são necessários para inativar o coronavírus, SARS-CoV (tamanho do genoma 29 quilobase – kb), 40 kGy para o filovírus (19 kb), 80 kGy para o arenavírus, bunyavírus, ortomixovírus e paramixovírus (13 kb) e 100 kGy para o flavivírus (9 kb) <sup>(21)</sup>. Em 2016, Hume e colaboradores estudaram três vírus com RNA de fita simples e com envelope de tamanhos semelhantes, o morbilivírus (90-150 nm), bunyavírus (90-120 nm) e o rbdovírus (70-150 nm), obtendo valores de D<sub>10</sub> de 2,53; 2,61 e 2,71 kGy, respectivamente. Obtiveram-se resultados similares quando o material foi irradiado sob o mesmo protocolo experimental <sup>(9)</sup>.

Existe a possibilidade de reparo do RNA de um vírus por diferentes mecanismos, podendo conferir certa radiorresistência ao microrganismo <sup>(26)</sup>. Por outro lado, para Nims *et al.* o tamanho do vírus é importante na sua sensibilidade frente as radiações, e independe da presença ou ausência de envelope na estrutura do vírus <sup>(10)</sup>. Assim como Schmidt *et al.* que ao investigar a inativação de vírus envelopados (HIV-2 e PRV- pseudorraiva) e não envelopados (HAV – hepatovírus e PPV – parvovírus suíno) por meio de esterilização por feixe de elétron através de dose única e fracionada (10 ciclos), não encontraram diferenças significativas entre ambos os processos alcançando uma redução de título de 4 log<sub>10</sub> suficiente para todos os vírus investigados a uma dose de 34kGy, sendo a fracionada (3,4kGy) considerando o vírus mais resistente como por exemplo o HIV-2 <sup>(27)</sup>. Abolaban e Djouider destacaram a importância de critérios na discussão sobre a amplitude de doses de radiação citadas por diferentes autores, considerando os diferentes protocolos seguidos durante os estudos <sup>(11)</sup>.

O impacto mundial da pandemia da Covid-19 impulsionou o desenvolvimento de vacinas. Leung *et al.* cultivaram SARS-CoV-2 em células Vero na presença de 1% de soro fetal bovino e 1% de L-glutamina. Com a fração de sobrenadantes, contendo vírus, foram titulados após irradiação. Assim o estudo pode sugerir 1,6 kGy como o valor de D<sub>10</sub>, com dose de inativação de 10kGy <sup>(16)</sup>.

A colaboração científica entre os Institutos de Pesquisas Energéticas e Nucleares e o Instituto Butantan permitiu o desenvolvimento do soro anti-Covid. Devido aos riscos de contaminação e o potencial de patogenicidade, os estudos com o vírus ativo precisam ser feitos em laboratórios de nível de biossegurança 3 (BSL 3). Existem poucos laboratórios dessa classe para pesquisa no país, limitando as possibilidades de pesquisa, no entanto quando inertes podem ser manuseados em BSL-2 que são mais disponíveis. O vírus é inativado por radiação e inoculado em cavalos, que têm uma capacidade de produção de anticorpos 50 vezes maior que os seres humanos, após isso, ocorre a retirada do plasma sanguíneo do animal, repleto dessas proteínas, que passa por um processo de purificação e obtenção dos anticorpos. Sendo assim, um tratamento voltado para pessoas já infectadas, diferente do foco preventivo que é promovido pelas vacinas <sup>(28)</sup>.

Ensaios pré-clínicos *in vitro* realizados por Botosso *et al.* com a imunoglobulina equina anti-SARS-CoV-2 F(ab)<sub>2</sub> para o tratamento de Covid-19 usando um antígeno viral SARS-CoV-2, purificado e inativado por radiação gama na dose de 15kGy, foi capaz de neutralizar o vírus e em tecido pulmonar animal este soro promoveu a redução na gravidade da doença, segundo os autores a próxima etapa do estudo irá englobar os ensaios clínicos fase I/II <sup>(29)</sup>.

## ESTERILIZAÇÃO DE EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INTERNA - EPIS

Atualmente são utilizados diversos métodos de esterilização: vapor (autoclave) dependente da temperatura, óxido de etileno (EtO) que emite poluentes ao meio ambiente e a radiação ionizante que apresenta algumas vantagens, mas que deve ter compatibilidade com os materiais tratados (termoplásticos, borrachas, têxteis, metais, pigmentos, vidros, adesivos e tintas) <sup>(30)</sup>.

Quase cinquenta por cento dos produtos de saúde, como luvas, seringas e roupas de proteção descartáveis são esterilizados por raios gama, feixes de elétrons ou raios X antes de seu uso. Contudo, pesquisas realizadas no Brasil, França, Israel, República da Coreia, Polônia e Estados Unidos mostraram que materiais filtrantes que possuem propriedades eletrostáticas perdem as suas propriedades filtrantes com doses superiores a 24 kGy como é o caso de muitas máscaras respiratórias do tipo N95 e FFP2 <sup>(31)</sup>.

A maior parte destes insumos descartáveis é feita de tecido – não tecido (TNT) a base de polipropileno. Na situação atual da pandemia e pela iminente falta dos EPIS, foram realizados estudos com doses de radiação de até 50 kGy visando inicialmente manutenção das propriedades filtrantes e a reutilização destes <sup>(31)</sup>. Keene *et al.* estudaram a degradação do TNT com a radiação gama e constaram a partir de 20kGy, sendo um resultado importante quando o objetivo é a reciclagem destes resíduos, uma vez que a sua decomposição em condições normais dura aproximadamente 100 anos <sup>(32)</sup>.

As máscaras cirúrgicas usadas em ambientes hospitalares apresentam grande quantidade de patógenos, principalmente bactérias e fungos oriundos da circulação do ar interno <sup>(33)</sup>. Além da radiação ionizante, uma outra alternativa para reuso tem sido verificada em estudos recentes com a radiação ultravioleta (UV-C) com comprimento de onda de 280 a 315nm, denominado de intervalo germicida que provoca a formação de dímeros de timina no DNA, os quais tem efeito letal sobre o microrganismo <sup>(4)</sup>. A principal limitação desta técnica é que este tipo de radiação não é penetrante sendo necessário um método químico complementar como é o uso de peróxido de oxigênio.

Gerchman *et al.* estudaram os diferentes comprimentos de onda para inativar o Coronavírus humano (HCoV-OC43) e obtiveram maior eficácia nos intervalos de 267 e 279nm (inativação de 3log na irradiação 6-7 mJ/cm<sup>2</sup>), enquanto comprimentos de onda mais longos de 286 e 297nm exigiram doses mais altas para inativação, sendo 13 mJ / cm<sup>2</sup> e 32 mJ / cm<sup>2</sup>, respectivamente <sup>(34)</sup>.

No Brasil a Escola Politécnica (Poli) da USP em parceria com a Plataforma Científica Pasteur submeteram as máscaras cirúrgicas de algodão e N95 contaminadas com o vírus SARS-CoV-2 à radiação UV-C em três condições: 15 minutos (0,453 J/cm<sup>2</sup>), 30 minutos (0,905 J/cm<sup>2</sup>) e 45 minutos (1,358 J/cm<sup>2</sup>). A avaliação através da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), para detecção de cópias de RNA viral, e por unidades formadoras de placa (UFP), mostrou que 15min foram o suficiente para inativação do vírus nos tecidos, mas, nos elásticos, o tempo necessário foi de 45 minutos <sup>(35)</sup>. Portanto, deve se considerar as diferenças de porosidade de cada material para a completa inativação do vírus.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta revisão mostrou que a radiação ionizante é um método de esterilização altamente eficiente na inativação de microrganismos, pois destrói a infecciosidade enquanto retém a atividade antigênica e imunogênica. Não aumenta a temperatura, não deixa resíduos, não produz gases poluentes nem gera produtos radioativos, possui boa penetrabilidade diante de produtos envasado e embalados,

eliminando os riscos de contaminação. Nessa técnica, observa-se que a dose de radiação necessária de inativação é inversamente proporcional ao tamanho do genoma viral. Assim, todos os resultados promissores dos estudos analisados fornecem uma base para o desenvolvimento de vacinas e soros antivirais com potencial de reduzir a morbidade e mortalidade em futuras pandemias. Apesar da sua compatibilidade com diversos tipos de insumos médicos, as altas doses para inativação viral pode comprometer a estrutura do material, por outro lado pode contribuir com o descarte na redução do tempo de decomposição e conseqüentemente minimiza o impacto ambiental. Para o caso SARS-CoV-2 ao  $D_{10}$  encontrado está ao redor de 2 kGy.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Martinho Junior AC. Estudo dos efeitos físicos, químicos e estruturais ocasionados pela radiação ionizante e preservação em cartilagem costal humana. 2008. 170f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo; 2008.
2. Calvo WAP. Desenvolvimento do sistema de irradiação em um irradiador multipropósito de cobalto-60 tipo compacto. 2005. 178f. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo; 2005.
3. Andreucci R. Radiologia Industrial. São Paulo: ABENDE; 2014. p. 130.
4. Da Silva RC, Da Silva RM, Aquino KAS. A interação da radiação gama com a matéria no processo de esterilização. *Revista Virtual de Química*. 2014; 6 (6):1624-1641. Doi: 10.5935/1984-6835.20140105.
5. Hewitt P, Leelawardana S. Gamma irradiation as a treatment to address pathogens of animal biosecurity concern. In: CC By 3.0. Canberra: Commonwealth of Australia; 2014. p.113.
6. Farkas J. Physical methods of food preservation. In: *Food microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Third Edition. American Society of Microbiology; 2007. 685-712.
7. Sullivan R, Fassolitis AC, Larkin EP, Read Junior RB, Peeler JT. Inactivation of thirty viruses by gamma radiation. *Applied Microbiology*. 1971; 22 (1): 61-65. Doi: 10.1128/am.22.1.61-65.1971.
8. OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Manual de segurança biológica em laboratório. 3ª edição; 2004. p. 215.
9. Hume AJ, Ames J, Rennick LJ, Duprex WP, Marzi A, Tonkiss J, et al. Inactivation of RNA viruses by gamma irradiation: a study on mitigating factors. *Viruses*. 2016; 8 (7): 1-11. Doi: 10.3390/v8070204.
10. Nims RW, Gauvin GG, Plavsic M. Gamma irradiation of animal sera for inactivation of viruses and mollicutes—a review. *Biologicals*. 2011; 39 (6): 370-377. Doi: 10.1016/j.biologicals.2011.05.003.
11. Abolaban FA, Djouider FM. Gamma irradiation-mediated inactivation of enveloped viruses with conservation of genome integrity: Potential application for SARS-CoV-2 inactivated vaccine development. *Open Life Sciences*. 2021; 16 (1): 558-570. Doi: 10.1515/biol-2021-0051.
12. Wiktor TJ, Aaslestad HG, Kaplan MM. Immunogenicity of rabies virus inactivated by  $\beta$ -propiolactone, acetyleneimine, and ionizing irradiation. *Applied Microbiology*. 1972; 23 (5): 914-918. Doi: 10.1128/am.23.5.914-918.1972.
13. Kang, CY, Gao Y. Killed whole-HIV vaccine; employing a well established strategy for antiviral vaccines. *AIDS research and therapy*. 2017; 14 (1): 1-4. Doi: 10.1186/s12981-017-0176-5.



14. Mullbacher A, Ada GL, Tha Hla R. Gamma-irradiated influenza A virus can prime for a cross-reactive and cross-protective immune response against influenza A viruses. *Immunology and Cell Biology*. 1988; 66 (2): 153-157. Doi: 10.1038/icb.1988.19.
15. Tobin GJ, Tobin JK, Gaidamokova EK, Wiggins TJ, Bushnell RV, Lee W, et al. A novel gamma radiation-inactivated sabin-based polio vaccine. *Plos One*. 2020; 15 (1): 1-19. Doi: 10.1371/journal.pone.0228006.
16. Leung A, Tran K, Audet J, Lavineway S, Batien N, Krishnan J. In vitro Inactivation of SARS-CoV-2 using gamma radiation. *Applied Biosafety*. 2020; 25 (3): 157-160. Doi: 10.1177/1535676020934242.
17. Ohshima H, Lida Y, Matsuda A, Kuwabara M. Damage induced by hydroxyl radicals generated in the hydration layer of  $\gamma$ -irradiated frozen aqueous solution of DNA. *Journal of Radiation Research*, 1996; 37 (3): 199-207. Doi: 10.1269/jrr.37.199.
18. Pruss A, Kao M, Gohs U, Koscielny J, Von Versen R, Pauli G. Effects of gamma irradiation on human cortical bone transplants contaminated with enveloped and non-contaminated viruses. *Biologicals*. 2002; 30 (2): 125-133. Doi: 10.1006/biol.2002.0326.
19. Seo HS. Application of radiation technology in vaccines development. *Clinical and Experimental Vaccine Research*. 2015; 4 (2): 145-158. Doi: 10.7774/cevr.2015.4.2.145.
20. Menéndez-Arias L, Andino R. Viral polymerases. *Virus Research*. 2017; 234: 1-3. Doi: 10.1016/j.virusres.2017.02.003.
21. Feldmann F, Shupert WL, Haddock E, Twardoski B, Feldmann, H. Gamma irradiation as an effective method for inactivation of emerging viral pathogens. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2019; 100 (5): 1275-1277. Doi: 10.4269/ajtmh.18-0937.
22. Delrue I, Verzele D, Madder A, Nauwynck HJ. Inactivated virus vaccines from chemistry to prophylaxis: merits, risks and challenges. *Expert review of vaccines*. 2012; 11 (6): 695-719. Doi: 10.1586/erv.12.38.
23. Boudarkov VA, Sereda AD, Carpov ON, Ponomarev VN. Using gamma rays to inactivate African swine fever virus. *Russian agricultural sciences*. 2016; 42 (5): 375-377. Doi: 10.3103/S1068367416050025.
24. Furuya Y. Return of inactivated whole-virus vaccine for superior efficacy. *Immunology and cell biology*. 2012; 90 (6): 571-578. Doi: 10.1038/icb.2011.70.
25. Lomax ME, Folkes LK, O'neill P. Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. *Clinical Oncology*. 2013; 25 (10): 578-585. Doi: 10.1016/j.clon.2013.06.007.
26. Barr JN, Fearn R. How RNA viruses maintain their genome integrity. *Journal of General Virology*. 2010; 91 (6): 1373-1387. Doi: 10.1099/vir.0.020818-0.
27. Schmidt T, Hoburg AT, Gohs U, Schumann W, Sim-Brandenburg JW, Nitsche A, et al. Inactivation effect of standard and fractionated electron beam irradiation on enveloped and non-enveloped viruses in a tendon transplant model. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2012; 39 (1): 29-35. Doi: 10.1159/000336380.
28. IPEN - INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES. Nuclear contra a COVID-19. São Paulo, 08 de julho de 2021. Disponível em: <[https://www.ipen.br/portal\\_por/portal/interna.php?secao\\_id=39&campo=16067](https://www.ipen.br/portal_por/portal/interna.php?secao_id=39&campo=16067)>. Acesso em 26/07/2021.

29. Botosso VF, Jorge SAC, Astray RM, de Sá Guimarães AM, Mathor MB, de Carneiro PDS, et al. Anti-SARS-CoV-2 equine F (Ab')<sub>2</sub> immunoglobulin as a possible therapy for COVID-19. *Scientific reports*, 2022; 12 (1): 1-17. Doi: 10.1038/s41598-022-07793-1.
30. IPEN – Instituto de Pesquisas energéticas e nucleares. Radioesterilização. Disponível em: <[https://www.ipen.br/portal\\_por/portal/interna.php?secao\\_id=741](https://www.ipen.br/portal_por/portal/interna.php?secao_id=741)>. Acesso em 31/07/2021.
31. IAEA - INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation Effective in Sterilizing Personal Protective Equipment Except For Respiratory Masks – IAEA. Viena, Austria, 30 de abril de 2020. Disponível em: <<https://www.iaea.org/newscenter/pressreleases/radiation-effective-in-sterilizing-personal-protective-equipment-except-for-respiratory-masks-iaea>>. Acesso em: 26 de jul. de 2021.
32. Keene B, Bourham M, Viswanath V, Avci H, Kotek R. Characterization of degradation of polypropylene nonwovens irradiated by  $\gamma$ -ray. *Journal of Applied Polymer Science*. 2014; 131 (4): 1-10. Doi: 10.1002/app.39917.
33. Luksamijarulkul P, Aiempadit N, Vatanasomboon P. Microbial contamination on used surgical masks among hospital personnel and microbial air quality in their working wards: A hospital in Bangkok. *Oman Medical Journal*. 2014; 29 (5): 346-350. Doi: 10.5001/omj.2014.92.
34. Gerchman Y, Mamane H, Friedman N, Mandelboim M. UV-LED Disinfection of Coronavirus: Wavelength effect. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2020; 212: 1-7. Doi: 10.1016/j.jphotobiol.2020.112044.
35. JORNAL DA USP. Radiação UVC inativa coronavírus, mas tipo de material e áreas não expostas limitam eficácia. São Paulo, 08 de jul. de 2021. Disponível em: <<https://jornal.usp.br/ciencias/radiacao-uvc-inativa-coronavirus-mas-tipo-de-material-e-areas-nao-expostas-limitam-eficacia/>> Acesso em: 26 de jul. de 2021.