

## Estabilidad del SARS-CoV-2 en el equipo de protección personal crítico

Samantha B. Kasloff<sup>1,5</sup>, Anders Leung<sup>1</sup>, James E. Strong<sup>1,2,3</sup>, Duane Funk<sup>4</sup> & Todd Cutts<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada, 1015 Arlington Street, Winnipeg, MB R3E 3R2, Canada.

<sup>2</sup>Department of Pediatrics and Child Health, College of Medicine, Faculty of Health Sciences, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada.

<sup>3</sup>Department of Infectious Diseases and Medical Microbiology, College of Medicine, Faculty of Health Sciences, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada.

<sup>4</sup>Department of Anaesthesia and Medicine, College of Medicine, Faculty of Health Sciences, University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada.

Nature, [doi.org/10.1038/s41598-020-80098-3](https://doi.org/10.1038/s41598-020-80098-3), 13 de enero, 2021

La propagación del COVID-19 en entornos de atención médica es preocupante, y los trabajadores de la salud representan un porcentaje desproporcionadamente alto de casos confirmados. Aunque se ha encontrado que el virus SARS-CoV-2 persiste en las superficies durante varios días, la extensión y duración en los fómites como modo de transmisión, particularmente en entornos sanitarios, no ha sido caracterizada por completo. Para arrojar luz sobre este asunto crítico, el presente estudio proporciona la primera evaluación integral de la estabilidad del SARS-CoV-2 en equipo de protección personal (EPP) experimentalmente contaminado ampliamente utilizado por los trabajadores de la salud y el público en general. Se controló la persistencia del virus viable durante 21 días en ocho materiales, incluidos guantes de nitrilo para exámenes médicos, guantes reforzados resistentes a productos químicos, respiradores N-95 y máscaras respiratorias para partículas N-100, Tyvek (traje encapsulado), plástico, algodón y acero inoxidable. A diferencia de los informes anteriores, la estabilidad del SARS-CoV-2 en presencia de una carga de suelo (carga basal), persistió hasta 21 días en forma experimental en el EPP inoculado, incluidos los materiales de los respiradores con careta filtrante (máscaras N-95 y N-100) y una visera de plástico. Por el contrario, cuando se aplica a una tela de 100% algodón, el virus sufre una rápida degradación y se vuelve indetectable por prueba de TCID<sub>50</sub> en 24 horas. Estos hallazgos subrayan la importancia del manejo apropiado del EPP contaminado durante y después del uso en entornos de alto riesgo y proporcionan información interesante sobre la utilidad potencial del algodón para limitar la transmisión de COVID-19.

Desde su aparición en China a fines de 2019, la propagación sin precedentes del SARS-CoV-2 ha llevado a la declaración de una pandemia por la Organización Mundial de la Salud. El papel de los entornos sanitarios en la propagación de este virus es de particular preocupación, ya que los trabajadores de la salud han representado un número desproporcionadamente alto de casos confirmados en los primeros meses de la pandemia COVID-19<sup>1-3</sup>. Se observaron tendencias similares en el brote de SARS del 2003, donde los trabajadores de la salud representaron aproximadamente el 20 % de los casos<sup>4</sup>.

Entre las muchas preguntas que aún no se han abordado adecuadamente sobre los modos de transmisión del COVID-19, se encuentran los relacionados con la propagación a partir de

fómites y la contaminación ambiental. En los entornos sanitarios en particular, numerosas superficies, que van desde las manijas de las puertas hasta las batas y guantes desechables pueden contaminarse con las gotas de secreciones infecciosas vertidas por personas infectadas. Además, la escasez mundial de equipos de protección personal (EPP) puede resultar en que los artículos destinados a un solo uso se reutilicen o usen durante períodos más largos de lo recomendado<sup>5</sup>. Esto, a su vez, puede aumentar la posibilidad de contaminación viral y posterior propagación. Un entendimiento de la estabilidad ambiental y la persistencia del SARS-CoV-2 en los EPP contaminados puede tener impactos profundos sobre el manejo de los artículos reutilizables y de un solo uso, durante el uso y después del uso.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la estabilidad del SARS-CoV-2 inoculado experimentalmente en las superficies de los EPP ampliamente encontrados por los trabajadores de la salud y la población en general. Nuestros hallazgos subrayan la importancia de un manejo adecuado de los EPP contaminados después de su uso, y proporcionan una interesante información sobre la utilidad potencial de las mascarillas de algodón para limitar la transmisión de COVID-19.

## **Materiales y métodos**

---

**Cultivo celular y virus.** Se preparó en células VeroE6, 3 cepas existentes en stock de SARS-CoV-2 (hCoV-19/ Canadá / ON-VIDO-01/2020, GISAID número de acceso EPI\_ISL\_425177), como se describió anteriormente<sup>6</sup>. La valoración final del stock viral y todos los eluidos experimentales se calcularon mediante el ensayo de dosis infecciosa de cultivo de tejidos al 50 % (TCID<sub>50</sub>) en células Vero E6, en un formato de placa de 96 pocillos utilizando el método de Reed y Muench<sup>7</sup>. Dado que el SARS-CoV-2 se clasifica como patógeno del grupo de riesgo 3, todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo en un laboratorio de alta contención, en el Laboratorio de Microbiología en Winnipeg, Canadá.

**Prueba las superficies.** Ocho materiales, que representan una gama de superficies ambientales que se encuentran comúnmente en las instalaciones sanitarias, se incluyeron en este estudio, con un enfoque particular en equipos de protección personal. Estas incluyeron guantes de nitrilo para exámenes médicos, guantes reforzados resistentes a productos químicos, mascarillas de respiración particuladas N-95 y N-100, overoles Tyvek, plástico de los protectores faciales, algodón pesado (100%) y acero inoxidable (**Tabla 1**).

Se obtuvieron cupones de acero inoxidable cortados de 1 cm<sup>2</sup> directamente del fabricante y se esterilizaron como se describe anteriormente<sup>8</sup>. Los cupones de todos los demás materiales experimentales se cortaron in situ a 1,4 cm<sup>2</sup> y se esterilizaron con 2 Mrads de radiación gamma antes de su uso.

Test Material	Description	Manufacturer/Source	Porosity
Stainless Steel	Stainless Steel (10 mm, AISI 430)	Klassen Manufacturing, Winnipeg Canada	Non-porous
Plastic face shield	Plastic face shield from PAPR Hood Assembly (BE-10L)	3 M, Saint Paul, Minnesota	Non-porous
Nitrile gloves	Nitrile Gloves (KC55081)	Kimberly-Clark Professional*, Irving, Texas	Non-porous
Chemical gloves	Chemical resistant, reinforced nitrile gloves (AlphaTec 39-124)	Ansell, Melbourne, AUS	Non-porous
Tyvek	Tyvek 400 Coveralls (TY125SWH)	DuPont, Wilmington, Delaware	Porous
Mask 1	N95 Particulate Filter Respirator and Surgical Mask (KC46727)	Kimberly-Clark Professional, Irving, Texas	Porous
Mask 2	N-100 Particulate Respirator (3M8233)	3 M, Saint Paul, Minnesota	Porous
Cotton	Heavy Cotton T Shirt	Fruit of the Loom, Bowling Green, Kentucky	Porous

**Table 1.** Comprehensive descriptions of materials used for assessment of SARS-CoV-2 environmental persistence.

**Inoculación y muestreo experimental.** El inóculo experimental consistió en virus de stock (título = 7.88 LogTCID<sub>50</sub>/ mL) preparado en una carga de suelo tripartita según la norma ASTM<sup>9</sup> que contiene mucina (Sigma # M3895), albúmina de suero bovino (Sigma # A1933) y triptona (Sigma # T7293), para representar los componentes orgánicos de los líquidos típicos que contienen el virus, vertidos por los individuos infectados<sup>10</sup>. Diez microlitros de la suspensión de virus resultante se agregaron mediante una pipeta de desplazamiento positivo al centro de cada cupón y se dejaron secar al aire en un gabinete de bioseguridad durante 1 hora. Una vez secos, los cupones se colocaron en un recipiente de plástico ventilado y se almacenaron en un gabinete cerrado a temperatura ambiente durante todo el estudio. Se realizaron registros diarios de temperatura y humedad a intervalos de 12 horas, monitoreado con un termohigrómetro profesional con registrador de datos (TFA Dostmann Product # 30.3039.IT).

Se tomaron muestras de tres réplicas biológicas (N = 3) de cada material de prueba en los siguientes puntos de tiempo después de la inoculación: T = 1 h (punto de secado), 4 h, y a los 1, 2, 3, 4, 7, 14 y 21 días. Dos estudios adicionales, de cursos cortos, también incluyeron algodón, utilizando el mismo régimen de inoculación y muestreo de hasta 3 dpi (dot per inch). Se recuperó el virus por elución de cada cupón en 1 mL de medio de cultivo (DMEM + 2% FBS + 1% Pen-Strep) con pipeteo repetido. Los eluidos se diluyeron inmediatamente diez veces en serie, para la titulación de punto final en células Vero E6, con los volúmenes restantes de eluidos almacenados a - 80 ° C, para un posible reprocesamiento, si fuera necesario. Las muestras resultantes en efecto citopático de bajo nivel (es decir, en un solo pocillo en diluciones netas) se sometieron a un subpase adicional para confirmar la presencia de virus viables. Además, en la primera instancia, donde todas las réplicas biológicas de un determinado material de muestra resultaron negativas, los sobrenadantes de las diluciones puras de las células Vero E6 inoculadas se sometieron a un subpase adicional, para asegurar la captura de virus potenciales de bajo nivel, no detectados visualmente en el primer pase. Al finalizar el estudio, se añadió el volumen total restante de cada eluato del día 21 a un pocillo de una placa de 6 pocillos de células Vero E6 y se monitorizó el efecto citopático para maximizar la detección de virus viables.

**RT-PCR en tiempo real.** Se realizó RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR) en las muestras recolectadas a T = 1 h (punto de secado), 4 h, y 1, 7 y 14 dpi para confirmar la elución exitosa de todas las superficies y evaluar las diferencias en ARN residual en comparación con partículas infecciosas. Brevemente, se combinaron los sobrenadantes de las tres réplicas

biológicas de materiales individuales recolectados en un momento dado, y el ARN viral se extrajo con el Viral RNA Mini kit (Qiagen, Alemania). La qRT-PCR se ejecutó en un LightCycler 96 (Roche, Alemania) utilizando el EXPRESS one step Kit universal Superscript RT-qPCR (Invitrogen, EE. UU.) Con cebadores y sondas dirigidas al gen de la nucleocápside (NP) gen<sup>11</sup>.

Las condiciones de ciclo térmico fueron 50 ° C durante 15 min para la transcripción inversa, seguido de 95 ° C durante 20 segundos y luego 40 ciclos de 95 ° C durante 3 segundos, 60 ° C durante 30 segundos. Los valores se informan como equivalentes logarítmicos del genoma por ml basado en los valores de CT obtenidos, con una curva estándar de concentración conocida de ADN plasmídico que codifica la región de la nucleocápside diana.

**Análisis estadístico.** Se realizaron representaciones gráficas de los resultados de TCID<sub>50</sub>, incluidos promedios y desviaciones estándar, utilizando el software GraphPad Prism (versión 7). A las réplicas biológicas sin virus recuperable se les asignó un valor de cero a los efectos de estos cálculos.

## Resultados

---

La persistencia ambiental del SARS-CoV-2 cuando se seca sobre superficies de EPP de uso común y superficies encontradas en entornos sanitarios durante un período de 21 días reveló diferencias dramáticas en la estabilidad del virus. 4 horas después de la deposición en el algodón, el virus infeccioso del SARS-CoV-2 disminuyó drásticamente y ya no era cuantificable a las 24 horas. Por el contrario, aunque se redujo casi al límite de detección, el SARS-CoV-2 permaneció viable hasta por 21 días cuando se seca en máscaras de procedimiento de respirador de plástico y partículas. El monitoreo en tiempo real de las condiciones ambientales reveló una temperatura constante cercana a los 20 ° C con una humedad relativa del 35–40%.

**Persistencia del SARS-CoV-2 en superficies no porosas.** Cuando se seca sobre superficies no porosas en una carga orgánica de suelo, el SARS-CoV-2 mostró una persistencia sostenida durante períodos prolongados de tiempo. El SARS-CoV-2 viable se recuperó después de 21 días en plástico, 14 días en acero inoxidable, 7 días en guantes de nitrilo y 4 días en guantes resistentes a químicos, aunque a niveles significativamente reducidos en comparación con el inóculo inicial (**Fig. 1**).

Los datos de persistencia en acero inoxidable mostraron una disminución en el título viral de 5,74 a 4,39 log TICD<sub>50</sub> / ml después de 24 horas, lo que representa una disminución > 95% en virus viables. El muestreo durante un curso de tiempo de 21 días reveló que el SARS-CoV-2 permaneció viable en acero inoxidable hasta por 14 días en condiciones ambientales, aunque títulos finales de 0,7 Log TCID<sub>50</sub> / ml fueron exponencialmente más bajos que el inóculo inicial (**Fig. 1A**).

En plástico, una reducción similar de virus viables se observó a las 24 horas de secado en comparación con el inóculo inicial (de 5,74 a 4,5 log DICT<sub>50</sub> / ml). Sin embargo, el virus secado en esta superficie permaneció viable hasta el punto de muestreo final a los 21 días después de la inoculación (**Fig. 1B**).

También se incluyeron para analizar dos tipos de guantes, que representan los utilizados en situaciones clínicas y potenciales en hospitales de campaña. Con los guantes de nitrilo, no se observó disminución del virus viable a las 4 horas posteriores a la inoculación, aunque a las 24 horas se registró una reducción de 2 log en el título viral. A los 7 días posteriores a la

inoculación, niveles bajos de virus viable (media 1,50 log TCID<sub>50</sub> /ml) permanecieron en las tres réplicas biológicas (**Fig. 1C**). Por el contrario, el virus aplicado a los guantes protectores para sustancias químicas mostró una reducción de 2 log en la viabilidad, después de solo una hora de secado, y una reducción de casi 4 log a 1,58 log TCID<sub>50</sub> / ml por 24 h (**Fig. 1D**).

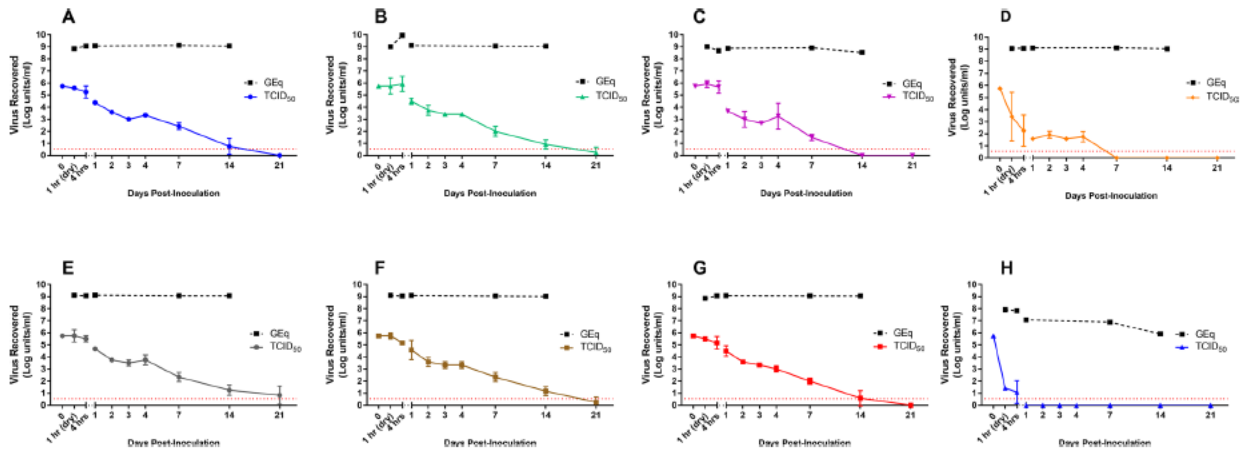
**Persistencia de SARS-CoV-2 en materiales porosos.** Aunque reducido a niveles casi indetectables, el SARS-CoV-2 viable podría recuperarse de los materiales de superficie inoculados con N-95 (Máscara 1) y N-100 (Máscara 2), hasta por 21 días. Los patrones de descomposición de la viabilidad del virus fueron comparables en las dos máscaras; ambos mostrando una disminución de casi 1 log de 24 a 48 h, títulos estables entre 2 y 4 días y disminución constante de los días 7 a 21 (**Figura 1E, F**). En Tyvek, el SARS-CoV-2 infeccioso persistió hasta 14 días; de nuevo, reducido a niveles muy bajos en comparación al inóculo inicial. Los patrones de persistencia en este material (**Fig. 1G**) se parecían más a los de acero inoxidable.

De todos los materiales probados, el algodón proporcionó la estabilidad ambiental más baja al SARS-CoV-2. Después de solo una hora de secado, se perdieron más de 4 logs de virus viables, lo que representa una disminución del 99,995% del inóculo de entrada. Después de 4 horas de secado, se registró una disminución adicional y solo dos de tres réplicas técnicas produjeron virus viable tras la elución. A las 24 horas y en todos los días de muestreo posteriores, el SARS-CoV-2 infeccioso en el algodón estuvo por debajo de los límites de detección por TCID<sub>50</sub> (**Figura 1H**).

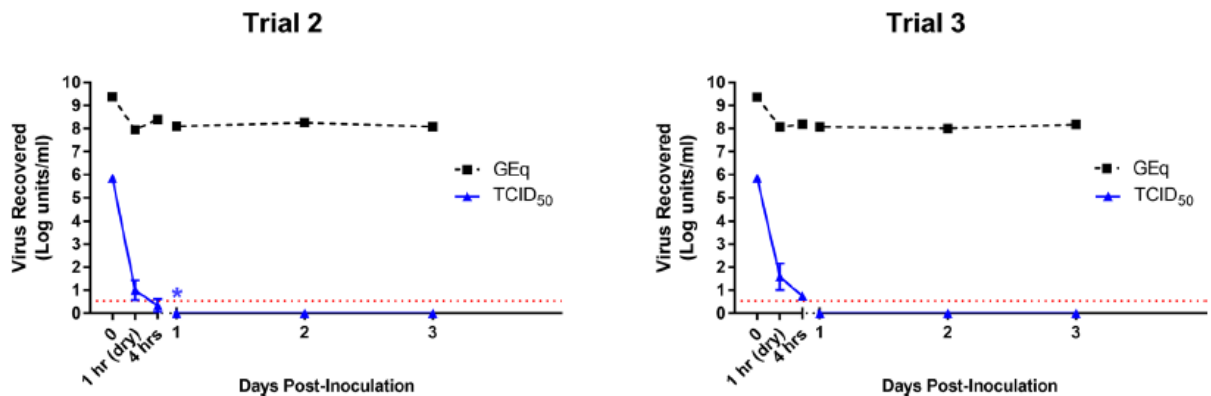
Para proporcionar confianza adicional a los datos de estabilidad sobre el algodón, se realizaron dos ensayos adicionales de persistencia a corto plazo, con un muestreo a intervalos idénticos al del experimento inicial a largo plazo, pero hasta sólo 3 dpi (**Fig. 2**).

Los resultados obtenidos coincidieron con los observados en el experimento inicial; una sola hora de secado resultó en más de cuatro registros de inactivación y se registró una pérdida adicional de viabilidad a las 4 horas posteriores a la inoculación. Al punto de muestreo de 24 horas, todas las réplicas biológicas de ambos experimentos independientes fueron negativas por ensayo de TCID<sub>50</sub>. Sin embargo, una única réplica biológica de uno de los ensayos resultó en CPE en la prueba de seguridad siguiente adición del volumen total de inóculo residual (~ 500 µl) del cupón eluído. En el momento de la inoculación, se observó la posible absorción del inóculo del cupón de algodón a la placa de cultivo de abajo para esa replicación biológica, sin embargo, esto no se puede confirmar como la causa de la viabilidad mantenida. No se observó más positividad en cualquier punto de muestreo posterior.

**Persistencia de ARN viral.** Para garantizar la elución completa de todos los materiales de prueba y proporcionar información sobre la persistencia de material genético viral en comparación con la del virus viable, se realizó qRT-PCR en ARN extraído de las ocho superficies de prueba en varios puntos de tiempo, hasta 14 dpi. En contraste con los resultados de viabilidad, el ARN del SARSCoV-2 mostró una estabilidad de alto nivel en casi todas las superficies hasta el punto de tiempo de 14 días, con 8–9 log equivalentes de genoma detectados a pesar de disminuciones significativas en los valores de TCID<sub>50</sub> correspondientes (**Fig. 1**). Cuando se eluyó del algodón, el ARN del SARS-CoV-2 se recuperó en títulos ligeramente más bajos, pero relativamente altos (~ 7,9 logaritmos) en los tiempos de muestreo de 1 y 4 horas, seguidos de una reducción gradual entre los días 1 y 14 después de la inoculación (**Fig. 1H**).



**Figura 1. Persistencia de SARS-CoV-2 en superficies inoculadas experimentalmente.** Materiales de ocho superficies experimentales, incluyendo (A) acero inoxidable, (B) plástico, (C) guantes de nitrilo, (D) guantes químicos, (E) máscara N95, (F) Se inocularon mascarilla N100, (G) Tyvek y (H) algodón, con 10  $\mu$ l de SARS-CoV-2 (título = 7,88 LogTCID<sub>50</sub> / mL) en una carga de suelo tripartita y muestreados a intervalos predeterminados durante un período de 21 días. Los valores de TCID<sub>50</sub> (líneas continuas) representan la media  $\pm$  DE del virus viable recuperado de tres réplicas biológicas después del punto final de titulación en células Vero E6. Los equivalentes del genoma (líneas negras discontinuas) se basan en los resultados de la qRT-PCR específica de la nucleoproteína obtenidos de eluidos combinados de tres réplicas biológicas, en los puntos de muestreo indicados. Las líneas punteadas rojas indican los límites de cuantificación para el ensayo de TCID<sub>50</sub>. **Nota:** Ordenadas, virus recuperado (unidades logarítmicas por ml. Abscisas, días post-inoculación.



**Figura 2. Persistencia de SARS-CoV-2 en algodón.** Diez microlitros de SARS-CoV-2 (título = 7.88 LogTCID<sub>50</sub> /mL) preparados en una carga de suelo tripartita se inocularon en cupones de tela de algodón irradiados con rayos gamma y muestreados a intervalos predeterminados durante un curso de tiempo de 3 días. Los valores de TCID<sub>50</sub> (líneas continuas) representan la media  $\pm$  DE de virus viable recuperado de tres réplicas biológicas después de la titulación de punto final en células Vero E6. Los equivalentes del genoma (líneas negras discontinuas) se basan en los resultados de qRT-PCR específicos de la nucleoproteína obtenidos de eluidos agrupados de tres réplicas biológicas en los puntos de muestreo indicados. Las líneas punteadas rojas indican los límites de cuantificación para el ensayo de TCID<sub>50</sub>. El asterisco indica la detección de virus viables en la prueba de seguridad de una única reproducción biológica.

## Discusión

La pandemia del COVID-19 ha generado una carga sin precedentes para los centros de salud en todo el mundo. Mientras que las gotitas respiratorias se consideran un modo importante de transmisión, el papel de los fómites en la propagación del SARS-CoV-2, como se ha sugerido para el SARS-CoV-1<sup>12</sup>, también se sospecha<sup>13</sup>. Nuestro trabajo representa la primera caracterización integral de la persistencia del SARS-CoV-2 en los materiales del EPP y superficies inanimadas típicas de las instalaciones sanitarias.

El SARS-CoV-2 viable se recuperó después de 21 días en plástico, 14 días en acero inoxidable y 7 días en guantes de nitrilo y 4 días con guantes resistentes a productos químicos. Aunque reducido desde la línea de base, cantidades significativas de SARSCoV-2 pudieron recuperarse de las máscaras inoculadas N-95 y N-100 a los 14 días. Cuando se seca sobre Tyvek, el SARS-CoV-2 persistió infeccioso hasta 14 días. De todos los materiales probados, el algodón proporcionó el medio ambiente más bajo para la estabilidad frente al SARS-CoV-2. Después de solo una hora de secado, se perdieron más de 4 registros de virus viables, lo que representa una disminución del 99,995% del inóculo de entrada. Estos resultados tienen relevancia directa para las prácticas de prevención y el control de infecciones, protocolos de lavado y manipulación de residuos en entornos sanitarios.

La escasez global de máscaras N-95 ha llevado a los centros de salud de todo el mundo a extender el uso de estas máscaras a pesar de que están diseñados para un solo uso<sup>5</sup>. Nuestros resultados demuestran que esta decisión, en ausencia de una estrategia de descontaminación, puede resultar en la persistencia del SARS-CoV-2 en la máscara. La persistencia de otros virus, como influenza, ébola y otros coronavirus, se ha informado en respiradores inoculados experimentalmente<sup>6,14,15</sup>.

Si bien varias metodologías de descontaminación son prometedoras para la reutilización de los N-95s<sup>16,17</sup>, nuestros resultados sugieren que se debe prestar especial atención a los criterios de recolección y al suministro de un EPP apropiado basado en el riesgo del personal involucrado en la clasificación y empaque de estas mascarillas, antes de la descontaminación.

Nuestro hallazgo de que el SARS-CoV-2 puede permanecer viable durante hasta 2 semanas a temperatura ambiente en Tyvek es novedoso y significativo. Las prendas Tyvek se han adoptado ampliamente en entornos de laboratorio, de campo y de atención médica de alto riesgo debido a las propiedades de tracción únicas combinadas con la impermeabilidad a los agentes infecciosos. La persistencia viral en Tyvek, combinada con nuestra demostración de persistencia viral en plástico, tiene implicaciones para la reutilización de las capuchas reutilizables de los respiradores potenciados por purificadores de aire (PAPR) en entornos de atención médica. La desinfección de estos dispositivos ha demostrado ser desafiante<sup>18</sup>. Estos resultados destacan la necesidad de una toma de decisiones basada en el riesgo y la implementación de protocolos de descontaminación cuando se practique la reutilización de estos componentes críticos del EPP.

La viabilidad extremadamente limitada del SARS-CoV-2 en el algodón se alinea con los resultados de supervivencia de otros virus en el algodón, incluidos los de origen humano y aviar<sup>6,19,20</sup>. Investigaciones anteriores de nuestro grupo sobre la persistencia del virus del Ébola en el EPP mostró tendencias comparables, con una disminución del virus viable en un 99% en un período de una hora de deposición sobre el algodón y se vuelve completamente

indetectable a las 24 horas, mientras que el ARN permanece detectable a lo largo del curso de estudio<sup>21</sup>. Similar a nuestros resultados con SARS-CoV-2, la viabilidad de SARS-CoV-1 cuando se aplica a  $10^5$  TCID<sub>50</sub> / ml se limitó a 1 h en una bata de algodón en comparación con 24 horas en una bata desechable<sup>22</sup>. Aunque hubo una ligera disminución en la cantidad de ARN recuperado de la tela de algodón en comparación con los otros materiales, esto fue menor en comparación con la pérdida sustancial de viabilidad del virus (ausencia completa a las 24 horas en 8/9 repeticiones). Si bien es posible que la retención del ARN y el virus en el algodón haya contribuido a una pequeña porción de la recuperación reducida, claramente la reducción de más de 6 logaritmos del virus viable en la PCR refleja el hecho de que el algodón tiene un efecto significativo sobre la viabilidad del virus. La naturaleza porosa del tejido de algodón, aumentando la superficie sobre la que se adsorbió la gota de inóculo y posteriormente se sometió a secado, es probable que aumente la degradación viral disminuyendo tanto la viabilidad del virus, así como la cuantificación de ARN. Mientras este manuscrito estaba en su etapa de revisión, un estudio publicado por Riddell y sus colegas corroboraron nuestras observaciones sobre la viabilidad reducida del SARS-CoV-2 en el algodón, en comparación con otros materiales<sup>23</sup>. Usando un inóculo de título similarmente alto, se observó una pérdida significativa de virus infeccioso después de una hora de secado, aunque la persistencia fue detectable hasta 7 días. Esta diferencia puede atribuirse a los atributos materiales específicos de los paños de algodón utilizados en los dos estudios, y/ o diferencias en el contenido de proteína en la preparación de virus concentrado, sin el uso de un cojín de sacarosa.

El uso de mascarillas no médicas para limitar la propagación de enfermedades respiratorias transmisibles, incluido COVID-19, ha sido polémico. Si bien la creciente evidencia sugiere que las máscaras de tela simples podrían ser efectivas para limitar SARS-CoV-2<sup>24</sup>, otros han cuestionado la eficacia de las máscaras de tela fabricadas o hechas en casa para prevenir la liberación de partículas virales de individuos infectados<sup>25,26</sup>.

Nuestras observaciones en el presente estudio no son destinadas a inferir la capacidad de las máscaras de algodón para prevenir la transmisión por aerosol del SARS-CoV-2, ni tampoco abordar la eficacia de filtración del algodón contra el virus. Sin embargo, el hecho de que la viabilidad del virus se reduce rápidamente en la exposición al algodón tiene implicaciones para la transmisión de gotas tanto para el usuario como para los contactos cercanos, y complementa el apoyo creciente del uso generalizado de mascarillas de algodón. Además, estos resultados sugieren que el uso de los tejidos en entornos sanitarios, pueden presentar un riesgo menor durante la manipulación para su posterior descontaminación y reutilización. El uso de fundas de algodón para mascarillas para extender el uso de máscaras N95, una tendencia creciente en los principales centros<sup>27</sup>, presenta un excelente ejemplo de tal estrategia de mitigación de riesgos.

La supervivencia del SARS-Cov-2 en superficies ambientales se ha descrito en dos estudios muy citados<sup>28,29</sup>. Nuestros resultados están de acuerdo con los reportados, sin embargo, la persistencia viral se prolongó significativamente bajo nuestras condiciones experimentales. Es probable que estas discrepancias se deban a una combinación de diferentes condiciones ambientales, títulos de inóculo y sensibilidad del ensayo de lectura. De hecho, en el trabajo recientemente publicado de Riddell y colegas<sup>23</sup>, se observó una persistencia prolongada del SARS-CoV-2 de hasta 28 días en las condiciones experimentales más parecidas a las utilizadas en este documento.

El trabajo de Chin y colegas<sup>28</sup>, utilizando una gota de 5 µl de stock de virus de alto título (~ 7,8 log TCID<sub>50</sub> unidades / mL), se parecía mucho a nuestras condiciones de inoculación. El 65% de



HR (humedad relativa) reportado en su estudio en comparación con ~ 40% de HR en nuestras condiciones experimentales, es probablemente un contribuyente significativo a la reducción de la viabilidad con el tiempo. Los efectos perjudiciales de la humedad relativa alta en la supervivencia de otros coronavirus, incluidos MERS y SARS-CoV-1, se ha demostrado<sup>30-32</sup>. No obstante, es importante la disponibilidad de datos específicos para diversas condiciones ambientales, diferentes ubicaciones geográficas reales.

En el informe de Van Doremalen y colegas<sup>29</sup>, el SARS-CoV-2 viable persistió hasta solo 3 días en acero inoxidable y el plástico. Si estas condiciones ambientales informadas eran parecidas a las nuestras, el título de SARS-CoV-2 infeccioso aplicado a las superficies de prueba fue aproximadamente 2 logaritmos más bajo que el aplicado en nuestro estudio. El efecto protector de se ha demostrado previamente de un alto título de inóculo sobre la persistencia ambiental para el SARS-CoV-1,<sup>22</sup> y por lo tanto la supervivencia prolongada observada con nuestro diseño experimental no es sorprendente.

Un factor adicional que diferencia el presente trabajo de otros estudios es la matriz en la que el inóculo fue preparado. La contaminación en un entorno de atención médica puede ocurrir a través de gotitas de una variedad de fluidos biológicos infecciosos, por lo tanto una carga de suelo tripartita estandarizada<sup>10</sup> fue incluida en nuestro inóculo experimental. Se ha demostrado la estabilidad adicional proporcionada por las matrices a los virus en condiciones de secado para muchos virus, incluido el SARS-CoV-1<sup>10,33,34</sup>. Los hallazgos recientes de Riddell y colegas, que demuestran la persistencia de SARS-CoV-2 viables hasta 28 días en varias superficies<sup>23</sup> apoya firmemente el papel de una matriz orgánica combinada con un inóculo de alto título en la persistencia viral extendida observada en nuestro entorno experimental.

La decisión de utilizar un inóculo de título alto en nuestro estudio fue representar el peor de los casos de persistencia de SARS-CoV-2 en una superficie contaminada. La eliminación de ARN viral por pacientes con COVID-19 varía ampliamente según el tipo de muestra, tiempo posterior al inicio de los síntomas, gravedad de la enfermedad y de forma individual<sup>35,36</sup>. Los datos clínicos de casos leves y graves ha revelado una variedad de datos, con cargas virales iniciales medias de 5.11 y 6.17 log<sub>10</sub> de copias de ARN viral por ml en casos leves y graves, respectivamente<sup>37</sup>. En un paciente crítico, se detectaron cargas de hasta 1,34 × 10<sup>11</sup> copias por mL<sup>36</sup>. Se carece de datos sobre virus infecciosos excretados de pacientes con enfermedad aguda de COVID-19. Sin embargo, en un estudio de patogénesis del SARS-CoV-2 publicado recientemente, las cargas virales máximas de > 6 log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub> / mL, correspondiente a 11 log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub> copias de ARN por mL se observaron en un modelo de hámster dorado<sup>38</sup>. Tomando estos datos en consideración, nuestro modelo experimental demostraría más de cerca la contaminación del medio ambiente de un caso grave de COVID-19.

Una posible limitación de este estudio radica en que las pruebas se llevan a cabo en un laboratorio de alta contención, donde 12 intercambios de aire por hora pueden representar un alto flujo de aire no necesariamente representativo de la mayoría de los establecimientos de salud, hogares y otros ambientes. Además, la hora inicial de secado bajo un gabinete de bioseguridad ha acelerado el efecto de secado y pueden haber acortado la cantidad de tiempo para inactivar el virus. Sin embargo, la persistencia revelada de hasta 21 días fue significativa y puede ser el mejor escenario asociado con condiciones del alto flujo de aire que pueden ocurrir en algunos entornos de atención médica.

Adicionalmente, las implicaciones de estos resultados y los de otros<sup>23,28,29</sup> sobre la potencial duración en fómites para la transmisión del SARS-CoV-2 debe interpretarse con cautela debido

a la metodología de muestreo utilizada. La recuperación viral se logró mediante la saturación del material en el medio, lo que permitió la recuperación de niveles extremadamente bajos de virus. Si hubiéramos empleado un método de hisopados para imitar más de cerca un escenario de contacto casual, cabría esperar una disminución en la sensibilidad y, por tanto, la duración de la detección de virus viables podría haberse reducido. Como resultado, los datos generados representan el peor de los casos de exposición potencial a través de estas superficies contaminadas, aunque el riesgo de transmisión de fómites por contacto casual solo puede inferirse por la presencia de infecciones virales en un momento dado.

Nuestros hallazgos sugieren que el SARS-CoV-2 puede seguir siendo infeccioso en el EPP contaminado durante períodos prolongados en un entorno de condiciones ambientales. Por el contrario, demuestran que la estabilidad está muy reducida en el algodón, incluso a las pocas horas de la contaminación, y podría fomentar el uso de algodón 100% en las prácticas de prevención y el control de infecciones donde no se requieren barreras resistentes a los fluidos. Estos resultados subrayan la importancia de un manejo adecuado del equipo de protección personal durante y después del uso en entornos de alto riesgo para minimizar la probabilidad de la transmisión por fómites y puede ayudar a los centros a desarrollar pautas y protocolos relacionados con la descontaminación y la reutilización de escasos EPP.

## Referencias

---

1. Anelli, F. *et al.* Italian doctors call for protecting healthcare workers and boosting community surveillance during covid-19 outbreak. *BMJ* **368**. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1254> (2020).
2. Centre for Evidence-Based Medicine. *COVID-19 How many Healthcare workers are infected?* <https://www.cebm.net/covid-19/covid-19-how-many-healthcare-workers-are-infected/>. Published 17 Apr 2020, Accessed 29 Apr 2020.
3. CBC News. *Health-Care Workers Make Up 1 in 10 Known Cases of COVID-19 in Ontario*. <https://www.cbc.ca/news/canada/toronto/health-care-workers-make-up-1-in-10-known-cases-of-covid-19-in-ontario-1.5518456>. Published 2 Apr 2020, Accessed 1 May 2020.
4. Chan-Yeung, M. Severe acute respiratory syndrome (SARS) and healthcare workers. *Int. J. Occup. Environ. Health* **10**, 421–427 (2004).
5. Ranney, M., Griffith, V. & Jha, A. Critical supply shortages—the need for ventilators and personal protective equipment during the Covid-19 pandemic. *N. Engl. J. Med.* **382**, e41 (2020).
6. Cook, B. W. M. *et al.* Evaluating environmental persistence and disinfection of the Ebola virus Makona variant. *Viruses* **7**, 1975–1986 (2015).
7. Reed, L. & Muench, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.* **27**, 493–497 (1938).
8. Springthorpe, V. & Sattar, S. *Quantitative Carrier Tests (QCT) to Assess the Germicidal Activities of Chemicals: Rationale and Procedures* (2003).
9. ASTM E2197 - 02. *Standard Quantitative Disk Carrier Test Method for Determining the Bactericidal, Virucidal, Fungicidal, Mycobactericidal and Sporocidal Activities of Liquid Chemical Germicides*. <https://doi.org/10.1520/E2197-02>.

10. Sattar, S., Springthorpe, V., Adegbunrin, O., Zafer, A. & Busa, M. A disc-based quantitative carrier test method to assess the virucidal activity of chemical germicides. *J. Virol. Methods* **12**, 3–12 (2003).
11. Centers for Disease Control and Prevention. *Research Use Only 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Primers and Probes*. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html> (2020).
12. Xiao, S., Li, Y., Wong, T. & Hui, D. S. C. Role of fomites in SARS transmission during the largest hospital outbreak in Hong Kong. *PLOS ONE* **12**, 1–13 (2017).
13. Ong, S. W. X. *et al.* Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **323**, 1610 (2020).
14. Coulliette, A. D., Perry, K. A., Edwards, J. R. & Noble-Wang, J. A. Persistence of the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus on N95 respirators. *Appl. Environ. Microbiol.* **79**, 2148–2155 (2013).
15. Casanova, L., Rutala, W. A., Weber, D. J. & Sobsey, M. D. Coronavirus survival on healthcare personal protective equipment. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **31**, 560–561 (2010).
16. Fischer, R. J. *et al.* Effectiveness of N95 Respirator Decontamination and Reuse against SARS-CoV-2 Virus. *Emerg Infect Dis.* **26**(9) 2253–2255. <https://doi.org/10.3201/eid2609.201524> (2020).
17. Kumar, A. *et al.* Decontamination of N95 masks for re-use employing 7 widely available sterilization methods. *PLOS ONE* **15**(12), e0243965. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243965> (2020).
18. Lawrence, C. *et al.* Assessment of half-mask elastomeric respirator and powered air-purifying respirator reprocessing for an influenza pandemic. *Am. J. Infect. Control* **45**, 1324–1330 (2017).
19. Tiwari, A., Patnayak, D. P., Chander, Y., Parsad, M. & Goyal, S. M. Survival of two avian respiratory viruses on porous and nonporous surfaces. *Avian Dis.* **50**, 284–287 (2006).
20. Bean, B. *et al.* *Survival of Influenza Viruses on Environmental Surfaces*. *THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES* vol. 146 <https://academic.oup.com/jid/article-abstract/146/1/47/992812> (1982).
21. Nikiforuk, A. M., Cutts, T. A., Theriault, S. S. & Cook, B. W. M. Challenge of liquid stressed protective materials and environmental persistence of ebola virus. *Sci. Rep.* **7**, 1–9 (2017).
22. Lai, M. Y. Y., Cheng, P. K. C. & Lim, W. W. L. Survival of SARS Coronavirus. *Clin Infect Dis.* **41**(7) e67–71. <https://doi.org/10.1086/433186> (2005).
23. Riddell, S., Goldie, S., Hill, A., Eagles, D. & Drew, T. W. The effect of temperature on persistence of SARS-CoV-2 on common surfaces. *Virol. J.* **17**, 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01418-7> (2020).
24. Howard, J. & *et al.* Face masks against COVID-19: an evidence review. *Prepr. (published online April 12.) (preprint)*. pp. 1–8. <https://doi.org/10.20944/preprints202004.0203.v1>. (2020)

25. Bae, S. *et al.* Effectiveness of surgical and cotton masks in blocking SARS–CoV-2: a controlled comparison in 4 patients. *Ann. Intern. Med.* <https://doi.org/10.7326/m20-1342> (2020).
26. Davies, A. *et al.* Testing the efficacy of homemade masks: Would they protect in an influenza pandemic?. *Disaster Med. Public Health Prep.* **7**, 413–418 (2013).
27. Emory Healthcare. *N95 Mask Cover Instructions*. (2020). <https://www.emoryhealthcare.org/ui/pdfs/covid/n95-mask-cover-pattern-picture-tutorial.pdf> Accessed 4 Sept 2020
28. Chin, A. W. H. *et al.* Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe* [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(20)30003-3) (2020).
29. Van Doremalen, N. *et al.* Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* <https://doi.org/10.1056/NEJMc2004973> (2020).
30. Van Doremalen, N., Bushmaker, T. & Munster, V. J. Stability of middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) under different environmental conditions. *Eurosurveillance* **18**, 20590 (2013).
31. Chan, K. H. *et al.* The effects of temperature and relative humidity on the viability of the SARS coronavirus. *Adv. Virol.* **2011**, 1–7 (2011).
32. Casanova, L. M., Jeon, S., Rutala, W. A., Weber, D. J. & Sobsey, M. D. Effects of air temperature and relative humidity on coronavirus survival on surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 2712–2717 (2010).
33. Rabenau, H. F. *et al.* Stability and inactivation of SARS coronavirus. *Med. Microbiol. Immunol.* **194**, 1–6 (2005).
34. Terpstra, F. G. *et al.* Resistance of surface-dried virus to common disinfection procedures. *J. Hosp. Infect.* **66**, 332–338 (2007).
35. Zou, L. *et al.* SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N. Engl. J. Med.* **382**, 1177–1179 (2020).
36. Pan, Y., Zhang, D., Yang, P., Poon, L. L. M. & Wang, Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect. Dis.* **20**, 411–412 (2020).
37. To, K. K. W. *et al.* Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* **20**, 565–574 (2020).
38. Sia, S. F. *et al.* Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 virus in golden Syrian hamsters. *Nat. Res. Rev.* <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-20774/v1> (2020).