

AEROSSÓIS MICROBIANOS—PROTEÇÃO CONTRA AEROSSÓIS INFECTANTES EM TÉCNICAS BACTERIOLÓGICAS

MILTON THIAGO DE MELLO

Seção de Bacteriologia, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

O problema das infecções contraídas por pessoas que trabalham em laboratórios de bacteriologia tem preocupado diversos grupos de pesquisadores. Boas revisões do assunto já têm sido publicadas mostrando os perigos a que estão sujeitos os que trabalham nesses laboratórios, principalmente quando são manuseados germes altamente virulentos (1-7). Contudo, nem sempre era conhecido o mecanismo de tais infecções admitindo-se, muitas vezes, a falta do seguimento estrito das técnicas bacteriológicas clássicas recomendadas.

Quando os laboratórios de Camp Detrick, nos Estados Unidos, começaram a investigar o assunto com técnicas aperfeiçoadas, reconheceu-se o papel que, em tais infecções, desempenham os aerossóis microbianos produzidos durante a execução de trabalhos bacteriológicos habituais. A publicação inicial mais importante sobre os aerossóis em técnicas bacteriológicas foi feita por Johanson e Ferris, em 1946 (8). Desde então, foram os cientistas desses laboratórios de Guerra Bacteriológica, liderados por Wedum, que contribuíram com maior soma de pesquisas. Infecções ocorridas durante os trabalhos com aerossóis de brucelas (9) e acidente com pesquisador que lidava com o vírus da psitacose (10) foram verdadeiros aceleradores dos estudos nesse sentido.

É preciso que amplos esclarecimentos sejam prestados a todos os bacteriologistas, a respeito dos aerossóis bacterianos que se formam no laboratório. É indispensável, conforme acentua Phillips (11) uma educação para a segurança na rotina bacteriológica. Pretendemos contribuir para essa educação, com o presente trabalho.

GENERALIDADES SOBRE AEROSSÓIS

No conceito de Trillat (12), que durante mais de 30 anos se dedicou a pesquisas sobre o assunto, aerossóis são partículas

microscópicas em suspensão no ar (poeiras, nevoeiros), nem sempre visíveis a olho nu

Uma definição mais aperfeiçoada é a de Dautrebande (13): aerossóis são colóides gasosos verdadeiros, isto é, sistemas caracterizados pela grande estabilidade da fase dispersa na fase dispergente gasosa. Podemos, contudo, para facilidade de exposição, adotar a classificação de Trillat, com os seguintes tipos de aerossóis:

Aerossóis	{	sólidos
		líquidos
	ou	
Aerossóis	{	vivos {
		bactérias
		cogumelos
		vírus
		mortos {
		fumaças
		nevoeiros

O problema dos aerossóis, em conjunto, e um dos mais fascinantes setores da biologia e da tecnologia. Dentre as revisões encontradas na literatura merecem destaque as dos principais grupos de pesquisadores de alguns países: Bélgica, Dautrebande (13, 14); Canadá, Kay (15); Estados Unidos, Wells (16); Inglaterra, Bourdillon *et al.* (17), bem como os trabalhos apresentados no Simpósio sobre Aerobiologia, editado pela Associação Norte-Americana para o Progresso da Ciência, em 1942 (18), e Simpósio sobre Aerossóis, realizado durante a 113a. Reunião Nacional da Sociedade Química Americana, em 1948 (19). Recentemente, passou-se a publicar uma revista destinada somente à publicação de trabalhos sobre aerossóis (20) e muitas pesquisas são feitas no setor dos aerossóis de materiais radioativos.

As principais características dos aerossóis e as aplicações destes na medicina, na indústria, na agricultura, em meteorologia e na arte militar foram objeto de apreciação que fizemos há pouco tempo (21).

AEROSSÓIS MICROBIANOS

Aerossóis microbianos ou aerossóis vivos são aqueles em que as partículas em suspensão no ar são micróbios vivos; provêm, geralmente, dum aerossol líquido. Apresentam um núcleo infeccioso, constituído pelo micróbio (o agente microbiano contido na gotícula inicial do aerossol líquido).

Alguns dados essenciais sobre as características dos aerossóis líquidos que dão origem aos microbianos são necessários para compreensão do mecanismo pelo qual se espalham os germes no ambiente, durante o trabalho bacteriológico.

Uma gotícula d'água, com diâmetro superior a 500 micra, numa velocidade de 10 milhas por hora, fragmenta-se em menores quando atinge a velocidade de 800 metros por segundo. Quando uma corrente de ar, com a velocidade de 100 metros por segundo passa pela superfície de um líquido, formam-se gotículas com 10 micra de diâmetro (16).

Entre os fatores que aceleram ou retardam a evaporação das gotículas, o que é essencial para que o núcleo infeccioso do aerossol permaneça no ar, destacam-se: composição química e tensão superficial do líquido, presença de partículas no mesmo, velocidade da gotícula em relação à do ar (incluindo-se a velocidade de expulsão ou projeção dinâmica e a velocidade de queda), temperatura, umidade e pressão atmosférica.

Do trabalho clássico de Jennison (22) transcrevemos um exemplo bastante elucidativo sobre o tempo de evaporação da gotícula em relação ao seu tamanho inicial:

Tempo de evaporação de gotículas d'água, em ar não saturado de umidade e parado, a 22°C.

<i>Diâmetro da gotícula (micra)</i>	<i>Tempo de evaporação (segundos)</i>
2.000	515,0
1.000	129,0
500	32,0
200	5,2
100	1,3
50	0,31
25	0,08
12	0,02

Quase todos os processos de formação de

aerossóis produzem gotículas com diâmetros inferiores a 100 micra. Assim, por exemplo, a maioria das gotículas expelidas nos processos expiratórios violentos (espirro, tosse, enunciação de certas letras, etc.) são aproximadamente de 10 micra de diâmetro e se assemelham às produzidas experimentalmente com nebulizadores eficientes (16). Para que uma gotícula de 12 micra de diâmetro caia numa superfície antes de evaporar-se, é necessário uma distância de 0,85 micra, entre o ponto de formação da gotícula e a superfície a ser atingida; em condições normais, isto será praticamente impossível.

Vê-se, portanto, a rapidez—frações de segundo—com que apenas restará o núcleo infeccioso do aerossol, pairando no ar, dessecado e, assim, em condições favoráveis para manter sua viabilidade e resistindo às influências nocivas do meio (pressão, temperatura, radiações luminosas, etc.).

A rapidez de dispersão dum aerossol microbiano é enorme. Num ambiente tranqüilo, depende de repulsões elétricas, movimentos brownianos e correntes de convecção. Para demonstrá-la, foi feita a seguinte experiência por Trillat: Numa sala fechada, de 17 metros de comprimento e 800 metros cúbicos de capacidade, uma cultura de *Serratia marcescens* foi nebulizada pelo buraco da fechadura duma porta situada numa das extremidades; os germes foram recuperados na extremidade oposta, 2 minutos depois (12).

O núcleo infeccioso do aerossol passa a fazer parte da atmosfera espalhando-se pelo ambiente, no que difere dos germes presos às partículas de poeira, que tendem a depositar-se.

Produção de aerossóis microbianos

Os aerossóis microbianos, da mesma forma que outros aerossóis, podem ser produzidos natural ou artificialmente.

a) *Aerossóis microbianos naturais.* Em condições naturais, os aerossóis estão-se formando constantemente na superfície das águas agitadas pelas correntes aéreas ou aquáticas (ventos, ondas, cachoeiras), bem como ao caírem n'água corpos os mais diversos (pedras, gotas de chuva). Desde que as

águas estejam contaminadas, estarão formados os aerossóis microbianos. Isto como que faz reviver a teoria dos miasmas; até mesmo certas edemias poderiam ser assim explicadas, à semelhança do que já propunha Stanley, em 1657, referindo-se aos “vapôres malignos endêmicos que infectam o ar” (23).

Excreta e materiais diversos, dessecados nos ambientes, também podem formar aerossóis microbianos tendo como núcleos infecciosos, entre outros, os agentes de histoplasmose (24-26), febre Q (27-29), infecções respiratórias e gastro-intestinais (1, 30, 31), carbúnculo hemático (32), coccidioidomicose (33-35), sem falar naqueles de longa data conhecidos, como os da tuberculose, bruceose, difteria, pneumonia, etc. (16, 23, 36, 37). O reconhecimento desses aerossóis microbianos tem sido facilitado, nos últimos anos, graças ao aperfeiçoamento de coletores de aerossóis e emprêgo de filtros de membrana tipo Millipore (38), embora os resultados nem sempre sejam concordantes, conforme a técnica empregada (39).

No momento, existe verdadeira explosão de trabalhos e de interesse pelos aerossóis formados nos hospitais e causadores de infecções por estafilococos. Isto se deve ao fato de tais germes se tornarem, com frequência, resistentes a diversos antibióticos. As instalações hospitalares e a mentalidade médica estão sendo adaptadas à luta contra os aerossóis microbianos (36, 40-45).

Modo bastante comum de se formarem aerossóis microbianos naturais consiste na atomização da saliva e de mucosidades (contendo germes e células do revestimento mucoso), procedida da boca, durante o espirro, a tosse e a conversação normal (16, 22, 46). As gotículas de Flügge (47) nada mais são do que partículas de maiores dimensões. Em geral não se concede importância às gotículas menores, visíveis somente com o efeito de Tyndall e que rapidamente desaparecem pela evaporação. Contudo, conforme está bem demonstrado, são elas mais importantes do que as grandes, sob o ponto de vista da bacteriologia do ar.

As gotículas maiores são depositadas nas

proximidades do ponto em que foram produzidas ou caem antes de se dessecarem (embora depois possam dessecar-se e ser ressuspensas no ar). As menores evaporam-se antes de atingir o solo ou outras superfícies; seus núcleos infecciosos ficam em suspensão no ar, por muito tempo, podendo ser carregados a longa distância. Como se vê, são estas últimas de perigo muito maior do que as primeiras, sob o ponto de vista epidemiológico (16). Recentemente, foi êsse papel demonstrado, mais uma vez, pelos trabalhos de Riley & O'Grady (48). Êsses pesquisadores colocaram 6 pacientes tuberculosos eliminando bacilos pelo escarro, numa enfermaria que se comunicava, por uma abertura no teto, com um local, no andar superior, onde foram mantidas 156 cobaias, num período de 2 anos; mensalmente, eram os animais testados com tuberculina, sendo retirados os positivos e mantendo-se aproximadamente o mesmo número com novos animais. Do total, 77 ficaram tuberculino-positivos, sendo que em 71 se firmou o diagnóstico de tuberculose, inclusive com isolamento de bacilos em 55.

O emprêgo de máscaras de pano aperfeiçoadas, que impedem a passagem de gotículas durante o espirro ou a tosse, ou para proteção individual, parecia ter solucionado, em parte, a questão (49), pelo menos para o pessoal hospitalar; mas tem sido provado que mesmo as melhores máscaras geralmente usadas não são eficazes, pois deixam passar as gotículas menores (22, 36, 40, 50). Trabalhos cuidadosos demonstraram que a melhor proteção individual só pode ser obtida com as máscaras contra poeiras e gases, do tipo usado na indústria (50).

b) *Aerossóis microbianos artificiais*. Até pouco tempo, os aerossóis microbianos formados artificialmente tinham seu estudo, em grande parte, restrito à obtenção de infecções por via aérea (16, 18, 23, 37, 51-56).

Presta-se, agora, muita atenção às pesquisas que visam à produção de aerossóis contendo agentes imunizantes. É provável que seja essa a modalidade a usar, futuramente,

na prevenção de doenças infecciosas, para grandes grupos de indivíduos, pois permitirá a vacinação em massa (em cinemas, restaurantes, enfermarias, colégios, quartéis, abrigos anti-aéreos), com aquêles agentes que se revelarem adequados para êsse fim. Trabalhos relativamente antigos, como os de Trillat (57), Troisier (58), Silverschmidt (59), Mizutani (60), e Hamada (61), já se referiam a bons resultados experimentais com vacinações por meio de aerossóis, em cólera aviário, tuberculose, difteria, tétano e salmoneloses. Deve ser destacado o trabalho de Troisier e seus colaboradores (58), que obtiveram evidências de proteção de crianças vacinadas com aerossóis de BCG. O grupo de Wells há muitos anos vem pesquisando ativamente, com o mesmo propósito, em experiências com tuberculose (16). Por sua vez, o grupo de Middlebrook também demonstrou, recentemente, que a proteção de cobaias contra a infecção tuberculosa pode ser obtida por meio de aerossóis de BCG (62, 63). Na Rússia, tem sido efetuado, nos últimos anos, vacinação antigripal por meio de aerossóis, como rotina, em milhões de pessoas (64). Em medicina veterinária os aerossóis têm sido usados com êxito na vacinação coletiva de aves contra a doença de Newcastle (65, 66) e, experimentalmente, noutras doenças, como a cinomose (67).

AEROSSÓIS INFECTANTES EM TÉCNICAS BACTERIOLÓGICAS

Embora entrevista a possibilidade de formação de aerossóis microbianos em técnicas bacteriológicas correntes, o trabalho inicial que confirma, inteiramente, essa possibilidade deve-se, conforme citamos, a Johansson & Ferris (8). Por meio de fotografias ultra-rápidas, demonstraram a formação de aerossóis em técnicas muito simples, tais como a abertura de frascos a pipetagens. Contudo, parece não ter sido bem aceita, a princípio, a generalização para outras técnicas bacteriológicas. Isso exigiria dos laboratoristas o reconhecimento de suas falhas, para o que nem sempre estão dispo-

tos. Ainda mais, não é freqüente a demonstração de aerossóis em certas técnicas—o que não significa estarem essas operações livres dos mesmos, conforme haviam assinado Johansson & Ferris.

O assunto continuou sendo objeto de pesquisas por parte dos bacteriologistas de Camp Detrick e de outros laboratórios, com técnicas aperfeiçoadas e numerosos trabalhos publicados (3, 6, 7).

Um fato importante a ressaltar, desde já, é que mesmo que o operador esteja aparentemente protegido com máscaras, luvas, etc., isto não evitará sua contaminação posterior, bem como a das pessoas que penetrarem nos ambientes contendo os aerossóis infectantes (16, 40, 50).

Trabalhando com brucelas, germes que estão em primeiro lugar entre os causadores de infecções de laboratório (5), procuramos estudar os motivos dêsses acidentes, bem como a forma de evitá-los. O conhecimento dos aerossóis em geral levou-nos à conclusão de que muitas das técnicas bacteriológicas usuais constituem perigo potencial para os operadores, por darem margem à formação de aerossóis microbianos. Desde que estejam sendo manuseados germes virulentos, as possibilidades de infecção do pesquisador e de contaminação de seu ambiente de trabalho são muito grandes.

Alguns dos poucos recursos protetores usados durante muito tempo têm-se revelado ineficientes ou muito dispendiosos para serem empregados em laboratórios mais modestos. Disso tem decorrido que o pessoal freqüentemente se infecte ou, então, que se abandonem pesquisas sobre muitos assuntos de alto interesse, devido ao temor de infecções inevitáveis.

Preocupado com êsses fatos, entramos em contacto com diversos laboratórios de microbiologia do Brasil e de outros países, palestramos com numerosos bacteriologistas e compulsamos a literatura especializada. Verificamos, durante muitos anos, as mesmas falhas de técnica, é bem verdade que involuntárias. A essa falhas acrescia-se a falsa segurança que até os melhores pesquisadores

possuíam, e muitos ainda possuem, ao seguirem, rigorosamente, uma técnica que sempre se lhes afigurou eficiente. Em diversos cursos de microbiologia que tivemos oportunidade de acompanhar, essas mesmas técnicas eram e são aconselhadas e recomendadas.

As conseqüências dessa falsa segurança têm sido, por um lado, as possibilidades de infecção para o pessoal de laboratório e, mesmo, para simples visitantes. Por outro lado, técnicos experimentados com muita relutância acreditam estarem contribuindo para o espalhamento de germes virulentos, alegando que não são comuns os casos de infecções de laboratório e que jamais as observaram produzidas por aerossóis. A propósito, convém observar que, embora as pessoas que trabalham em laboratórios bacteriológicos certamente absorvam alguns germes, a infecção somente se desenvolverá nas mesmas dependendo de 4 fatores inter-relacionados (6):

- 1) quantidade de germes;
- 2) virulência do germe;
- 3) via de infecção: pele, olhos, boca, pulmão;
- 4) resistência individual: estado de saúde, resistência natural, infecção prévia, resposta imunitária a vacinas e toxóides.

Devem ser lembradas as palavras de Wedum e seus colaboradores de Camp Detrick (7): “Embora as infecções de laboratório tenham sido consideradas, no passado, como ‘fazendo parte do ofício’, considerações de ordem moral e legal geralmente acentuam a responsabilidade do diretor do laboratório na proteção das pessoas direta ou indiretamente associadas com a pesquisa. Por diversas razões, então, alguns laboratórios evitam trabalhar com germes como *Coxiella burnetti*, *Coccidioides immitis*, *Malleomyces mallei* e vírus da encefalite russa estivo-primaveril, bem como realizar experiências microbiológicas que, em si mesmas, sejam perigosas, mesmo que os germes sejam de infeciosidade moderada em condições normais, por exemplo, a infecção por via respiratória com *Bacillus anthracis*”.

Lembre-se, ainda, que certos germes considerados não patogênicos podem ser causa

de acidentes, até mesmo fatais, como a *Serratia marcescens* (68-70), daí o trabalho com êles, sem maiores cuidados, ser potencialmente perigoso.

Quadros educativos sobre técnicas formadoras de aerossóis

Com o propósito de auxiliar os microbiologistas no sentido de prevenirem a formação e o espalhamento de aerossóis que possam causar infecções de laboratório, pensamos organizar quadros instrutivos, à semelhança do que se faz na indústria, para prevenção de acidentes, a fim de serem colocados em lugares visíveis, nos laboratórios que lidam com germes patogênicos (71).

Os quadros têm por finalidade mostrar os detalhes de técnica perigosos e sugestões para corrigir ou prevenir os eventuais malefícios decorrentes da manipulação perigosa. Muitas dessas técnicas são, na aparência, muito simples, como flambagem de alças, trituração de materiais, abertura de tubos e ampolas, centrifugações, aglutinações em lâminas, etc.

São êles os seguintes:

- 1) Evite formação e espalhamento de aerossóis (quadro de apresentação).
- 2) Centrifugação em tubos ou frascos.
- 3) Transferência de material seco (liofilizado), para tubo contendo caldo.
- 4) Retirada de uma agulha de injeção, de recipiente com rôlha de borracha.
- 5) Abertura de frasco ou ampôla contendo material seco (liofilizado).
- 6) Retirada de rôlha de algodão, de vidro ou de borracha, de um frasco ou tubo.
- 7) Fechamento de ampôlas ao fogo.
- 8) Mudança de líquido, de um recipiente para outro.
- 9) Transferência de líquidos com pipeta.
- 10) Fervura de materiais contaminados com germes esporulados.
- 11) Separação por centrifugação em “Sharples”.
- 12) Flambagem de alças de metal ou de vidro.
- 13) Mistura de líquidos, com pipeta, aspirando e soprando.
- 14) Operações com vácuo. Liofilização.
- 15) Necrópsia de animais e, principalmente, corte de pulmões.

16) Transporte e deposição de líquidos com alça. Aglutinação em lâminas.

17) Introdução de alça num líquido.

18) Instalação nasal em animais.

19) Trituração de materiais em liquidificador ("Waring blender") ou gral.

20) Operações com ovos embrionados.

21) Operações com seringas.

22) Abertura de placas de Petri.

Propositadamente, não foram abordados nos quadros os assuntos relativos a biotérios, capelas, esterilização do ar e localização de salas de trabalho, os quais constituem grave aspecto a considerar nas infecções de laboratório e muito bem apresentados nas publicações de Camp Detrick, de consulta indispensável (3, 6, 7). Sobre êles faremos alguns comentários adiante.

Enumeramos, apenas, as diversas manipulações que se efetuam, em geral, sobre as mesas do laboratório e que dão origem a aerossóis—daí serem capazes de causar acidentes. Note-se que a maioria das técnicas defeituosas figuradas nos quadros ainda são feitas dessa forma potencialmente perigosa, em muitos laboratórios, mesmo ao serem manuseados germes muito virulentos, por desconhecerem seus executantes que elas permitem a formação e o espalhamento de aerossóis infectantes.

Biotérios

Nenhuma referência é feita, nos quadros, ao problema da manutenção de animais de laboratório infectados com germes virulentos. Isto envolveria a confecção de desenhos muito complexos, relacionados com a construção de biotérios adequados. A melhor solução para o assunto só pode ser encontrada no emprêgo de instalações especialmente construídas e de gaiolas individuais, em que a ventilação seja absolutamente controlada utilizando-se largamente filtros especiais, lâmpadas germicidas e esterilizadores de ar. Detalhes e sugestões podem ser encontrados nas publicações oriundas de Camp Detrick e outras (3, 6, 7, 16, 55, 72-74).

Capelas

A solução ideal, ao se lidar com germes virulentos, é a execução de tôdas as técnicas bacteriológicas no interior de capelas especiais, com emprêgo de luvas de borracha ou por meio de contrôle remoto, a semelhança do que se faz com material radioativo. Diversas firmas fabricam capelas muito cômodas, dotadas de requisitos técnicos (Kewaunee, Fisher, Blickman, American Sterilizer, Lenard). O preço relativamente elevado desses utensílios pode limitar, por enquanto, sua generalização, mas outras capelas, mais simples, feitas de madeira, matéria plástica e outros materiais, podem ser utilizadas, conforme as descrições originais ou com pequenas modificações, de acôrdo com as circunstâncias do trabalho a executar (3, 6, 7, 72, 74-79).

Esterilização do ar

O ar que sai das capelas ou das câmaras em que se trabalha com germes perigosos deve ser esterilizado.

Existem diversos processos para efetuar essa esterilização:

1) por incineração, com auxílio de resistências elétricas (75-80) ou bicos de gás (16, 76, 78, 81);

2) por passagem forçada em frascos com filtros (82) ou com soluções de ácido fênico, ácido sulfúrico e hidróxido de sódio (81);

3) por filtração em fibras de vidro especiais (3, 6, 7, 72, 73), algodão e outros materiais (83):

4) por precipitação eletrostática (84);

5) por meio de tratamento com aerossóis germicidas (7, 16, 43);

6) por meio do emprêgo de luz ultravioleta (3, 7, 16, 56, 73, 85).

De todos os recursos utilizados para diminuir ou eliminar os aerossóis microbianos no interior das capelas e fora destas, um dos mais importantes é o uso de lâmpadas germicidas, de raios ultra-violeta (56), que devem ser instaladas abundantemente e de acôrdo com as especificações técnicas relativas a cada tipo. O próprio ar condicionado deve ser tratado dessa forma (85),

antes e depois de passar pelas capelas, câmaras e biotérios.

Em casos especiais, principalmente para a desinfecção final das capelas e câmaras, são muito úteis os aerossóis germicidas; destacando-se os de formol, ácido láctico e os de glicóis e derivados, sobretudo o trietilenoglicol. Podem ser encontrados no comércio, puros ou associados a outros agentes (inseticidas, perfumes, desodorizantes) e possuem várias designações (16, 43, 86).

Localização da sala de trabalho

As capelas em que se manuseia o material contendo micróbios perigosos devem estar contidas em câmaras suficientemente isoladas do conjunto das instalações do laboratório e em perfeitas condições de segurança, em todos os seus detalhes, para evitar quaisquer acidentes.

Se o trabalho não estiver sendo executado em capelas, deverá ser destinado para o mesmo uma sala também dotada de requisitos de segurança.

A desinfecção do laboratório e das mesas de trabalho deve ser feita com germicidas eficientes e de ação residual, de preferência os que se aplicam em superfícies (43, 56, 87-89), pois os aerossóis germicidas poderão interferir no desenvolvimento de germes com os quais se esteja trabalhando.

Sugestões a respeito da organização geral de laboratórios para o manuseio de germes virulentos e perigosos são encontradas em publicações que descrevem as instalações do "Biological Warfare Laboratories", em Fort Detrick, Maryland (7, 55), do "Infectious Diseases Laboratory at the National Institutes of Health", em Bethesda, Maryland (90), da "Merck", em Rahway, New Jersey (90), do "Wellcome Research Laboratory", em Sussex, Inglaterra (75), além de outras.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos às pessoas e entidades abaixo o auxílio que prestaram para a execução do presente trabalho.

O Conselho Nacional de Pesquisas do Brasil, atendendo a pedido feito em abril de 1953, concedeu-nos um auxílio de Cr \$5.000,00 (cinco mil cruzeiros) para pagamento ao desenhista.

As técnicas recomendadas nos quadros foram, em sua maioria, experimentadas e empregadas rotineiramente, nos Laboratórios Moura Brasil-Orlando Rangel, do Rio de Janeiro, que, pelo seu Diretor Presidente, Dr. Nestor Moura Brasil, nos concedeu tôdas as facilidades possíveis no Departamento de Pesquisas.

Em tôdas as nossas pesquisas sôbre o assunto contamos, durante mais de 10 anos, com o estímulo e a colaboração da Dra. Niber da Paz M. Silva, da Seção de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz

BIBLIOGRAFIA

- (1) Fish, C. H., e Splendove, G. A.: Safety measures in a tuberculosis laboratory, *Pub. Health Rep.*, 65(14):466-467, 1950.
- (2) Long, E. R.: The hazard of acquiring tuberculosis in the laboratory, *Am. Jour. Pub. Health*, 41(7):782-787, 1951.
- (3) Reitman, M., e Wedum, A. G.: Microbiological safety, *Pub. Health Rep.*, 71(7):659-665, 1956.
- (4) Smadel, J. E.: The hazard of acquiring virus and rickettsial diseases in the laboratory, *Am. Jour. Pub. Health*, 41(7):788-795, 1951.
- (5) Sulfin, S. E., e Pike, R. M.: Survey of laboratory-acquired infections, *Am. Jour. Pub. Health*, 41(7):769-781, 1951.
- (6) Wedum, A. G.: Bacteriological safety, *Am. Jour. Pub. Health*, 43(11):1248-1437, 1953.
- (7) Wedum, A. G., et al.: Laboratory design for study of infectious diseases, *Am. Jour. Pub. Health*, 46(9):1102-1113, 1956.
- (8) Johansson, R. R., e Ferris, D. H.: Photograph of airborne particles during bacteriological plating operations, *Jour. Inf. Dis.*, 78(3):238-252, 1946.
- (9) Howe, C. et al.: Acute brucellosis among laboratory workers, *New Engl. Jour. Med.*, 236:741-747.
- (10) Rosebury, T. et al.: A laboratory infection with psittacosis virus treated with penicillin and sulfadiazine, and experimental data bearing on the mode of infection, *Jour. Inf. Dis.*, 80(1):64-77, 1947.
- (11) Phillips, G. B.: Safety education for microbiologists, *Bact. News, Soc. Am. Bact.*, 23(3):27, 1957.
- (12) Trillat, A.: Les aérosols microbiens: applications, *Bull. Acad. Méd.*, 102, Sec. 3, 119(2):64-74, 1938.
- (13) Dautrebande, L.: Aérosologie. Technique. Physiologie. Thérapeutique. Hygiène. Libr. J. Baillière et Fils, Ed., Paris, 1951, p. 340.

- (14) Dautrebande, L. *et al.*: Essai de prévention de la silicose—Union Min-Haut-Katanga, 1954, p. 177.
- (15) Kay, K.: Air pollution, *Anal. Chem.*, 29(4): 589-604, 1957.
- (16) Wells, W. F.: *Airborne contagion and air hygiene. An Ecological study of droplet infections*, Commonwealth Fund, Harvard Univ. Press, Massachusetts, 1955, pág. 423.
- (17) Bourdillon, R. B. *et al.*: Studies in air hygiene, *Med. Res. Co., Spe. Rep. Series*, No. 262, 1948, p. 356.
- (18) Aerobiology. Symposium, Pub. No. 17, *Am. Ass. Advanced Science*, 1942, p. 289.
- (19) Aerosols. Symposium, *Chem. Reviews*, 44(2): 245-417, 1949.
- (20) Zeitschrift für Aerosolforschung.
- (21) Thiago de Mello, M.: Aerossóis em medicina, *Bol. Inst. Pueric. Univ. Brasil*, 12(3):146-156, 1955.
- (22) Jennison, M. W.: Atomizing of mouth and nose secretions into air as revealed by high-speed photography. En "Aerobiology", 1942, p. 106-128.
- (23) Krueger, A. P., *et al.*: Air-borne infections—A review, *War Med.*, 4(1):1-30, 1943.
- (24) Gordon, M. A., e Cupp, N. B., Jr.: Detection of *Histoplasma capsulatum* and other fungus spores in the environment by means of the membrane filter, *Mycologia*, 45:241-252, 1953.
- (25) Ibach, M. J., *et al.*: Epidemic histoplasmosis and airborne *Histoplasma capsulatum*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 85:72-74, 1954.
- (26) Rooks, R.: Air-borne *Histoplasma capsulatum* spores, *Science*, 119(3090):385-386, 1954.
- (27) Babudieri, B., e Suzzi-Valli, E.: Studi e ricerche su alcuni episodi di febbre Q verificatisi nella Repubblica di San Marino, *Rend. Inst. Sup. Sanità*, 14(6):430-459, 1951.
- (28) DeLay, P. D., *et al.*: Q fever in California. II-Recovery of *Coxiella burnetii* from naturally-infected air-borne dust, *Jour. Immunol.*, 65(2):211-220, 1950.
- (29) Lennette, E. H., e Welsh, H. H.: Q fever in California. X. Recovery of *Coxiella burnetii* from the air of premises harboring infected goats, *Am. Jour. Hyg.*, 54(1):44-49, 1951.
- (30) Bate, J. G., e James, U.: *Salmonella typhimurium* infection dust-borne in a children's ward, *Lancet*, 4:713-715, (obre.) 1958.
- (31) Rosenow, E. C.: Streptococci from outdoor air in relation to the seasonal occurrence of infections involving the respiratory tract and nervous system respectively, *Jour. Aviation Med.*, 22(3):235-243, 1951.
- (32) Gordon, M. A., *et al.*: Industrial air-sampling for anthrax bacteria, *A. M. A. Arch. In. Hyg. Occup. Med.*, 10:16-22, 1954.
- (33) Chapman, J. S.: New concepts of the origin of coccidioidal granuloma, *Dallas Med. Jour.*, 45(1):20-21, 1959.
- (34) Keeney, E. L.: A protective cabinet for investigators studying *Coccidioides immitis* and other infectious fungi, *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 78(3):113-118, 1946.
- (35) Looney, J. M., e Stein, T.: Coccidioidomycosis. The hazard involved in diagnostic procedures, with report of a case, *New Engl. Jour. Med.*, 242(3):77-82, 1950.
- (36) Duguid, J. P., e Wallace, A. T.: Air infection with dust liberated from clothing, *Lancet*, 27:845-849 (nbre.) 1948.
- (37) Rosebury, T., *et al.*: Bacterial warfare, *Jour. Immun.*, 56(1):7-96, 1947.
- (38) Millipore Filter Corporation—Bibliography, jun. 1958, p. 1-8.
- (39) Schadt, C., e Cadle, R. D.: Critical comparison of collection efficiencies of commonly used aerosols sampling devices, *Anal. Chem.*, 29(6):864-868, 1957.
- (40) Adams, R. *et al.*: Control of infections within hospitals, *Jour. Am. Med. Assn.*, 169(14): 1557-1567, 1959.
- (41) Allen, H. F.: Air hygiene for hospitals. I. Arrestment of air borne and dust borne staphylococci by a hospital vacuum cleaner, *Jour. Am. Med. Assn.*, 169(6):553-560, 1959.
- (42) Decker, H. M. *et al.*: Air sampling and others control techniques in study of hospital staphylococcal infection, *Am. Jour. Pub. Health*, 49(7):947-948, 1959.
- (43) Hudson, P. B., e Sproul, E. E.: Effective system of bactericidal conditioning for hospitals, *Jour. Am. Med. Assn.*, 169(14):1549-1556, 1959.
- (44) Hurst, V., *et al.*: Hospital laundry and refuse chutes as source of staphylococcal cross-infection, *Jour. Am. Med. Assn.*, 167(10): 1223-1229, 1958.
- (45) Walter, C. W.: Environmental sepsis, *Modern Hospital*, 91(6):69-78, 1958.
- (46) Weyrauch, F., e Rzymkoski, J.: Photographien zur Tröpfcheninfektion, *Z. Hygiene*, 120(5):444-449, 1938.
- (47) Flügel, C.: Ueber Luftinfection, *Z. Hygiene*, 25:179-224, 1897.
- (48) Riley, R. L., e O'Grady, F.: Transmission of tuberculosis by droplet nuclei, *Maryland St. Med. Jour.*, 8(7):312-313, 1959.
- (49) McNett, E. H.: Máscara protectora contra la tuberculosis, *Bol. Of. San. Pan.*, 29(4):431-445, 1950.
- (50) Guyton, H. G., *et al.*: Evaluation of respiratory protection of contagion masks, *Appl. Microb.*, 4(3):141-143, 1956.
- (51) Elberg, S. S., e Handerson, D. W.: Respira-

- tory pathogenicity of *Brucella*, *Jour. Inf. Dis.*, 82(3):302-306, 1948.
- (52) Ferry, R. M. *et al.*: The preparation and measurement of the concentration of dilute bacterial aerosols, *Chem. Reviews*, 44(2): 389-417, 1949.
- (53) Fothergill, L. D.: Symposium on microbial aerosols and respiratory infections, *Bact. Reviews*, 21(4):249-250, 1957.
- (54) Lurie, M. B., *et al.*: An evaluation of the method of quantitative airborne infection and its use in the study of the pathogenesis of tuberculosis, *Am. Rev. Tub.*, 61(6):765-797, 1950.
- (55) Rosebury, T., *et al.*: *Experimental air-borne infection*, William & Wilkins Co., Baltimore, 1947, p. 222.
- (56) Wedum, A. G., *et al.*: Ultraviolet sterilization in microbiological laboratories, *Pub. Health Rep.*, 71(4):331-336, 1956.
- (57) Trillat, A.: Essais de vaccination par voie aérienne (cas du choléra des poules), *C. R. Acad. Sci.*, 194(3):321-322, 1932.
- (58) Troisier, J., *et al.*: La vaccination antituberculeuse par les voies respiratoires. Aérosols et brouillards de BCG, *Ann. Inst. Pasteur*, 70(1-2):33-36, 1944.
- (59) Silverschmidt, W.: Essais d'immunisation par inhalation. I.—Diphthérie et tétanos, *Ann. Inst. Pasteur*, 52(6):690-708, 1934.
- (60) Mizutani, A.: Experimental studies on immunization through respiration. Appearance of antibodies by inhaling the sprayed typhoid and dysentery vaccines, *Acta Dermatol.*, Japan, 26(5-6):93-100, 1935.
- (61) Hamada, H.: Experimental studies on immunization by means of inhalation of diphtheria-anatoxin or antisera (I). I. Result of active immunization produced by means of inhalation of diphtheria-anatoxin, *Acta Dermat.*, Japan, 28(3-4):37-45, 1936.
- (62) Cohn, M. L., *et al.*: Airborne immunization against tuberculosis, *Science*, 128(3334): 1282-1283, 1958.
- (63) Schaeffer, W. B., *et al.*: Comparative study of the vaccinating properties of BCG and its isoniazid-resistant mutant in guinea pigs, *Am. Rev. Tub.*, 75(4):656-658, 1957.
- (64) Smorodintsev: Proc. 3d Intern. Biol. Standard., 1957:97-101. Res. En: Pub. Health Monograph, No. 50. 1957.
- (65) Hitchner, S. B., y Reising, G.: *Proc. Am. Vet. Med. Assn.*, 1952, p. 258.
- (66) Levine, P. P., e Fabricant, J.: Susceptibility to Newcastle infection of chicks with congenital serum antibodies, *Cornell Vet.*, 40: 213-225, 1950.
- (67) Gorham, J. R., *et al.*: Distemper immunization of ferrets by nebulization with egg adapted virus, *Science*, 119(3082):125-126, 1954.
- (68) Paine, T. F.: Illness in man following inhalation of *Serratia marcescens*, *Jour. Inf. Dis.*, 79(3):226-232, 1946.
- (69) Reitman, M. *et al.*: Agglutinins in sera of laboratory workers exposed to *Serratia marcescens*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 89:236-240, 1955.
- (70) Vernon, R. G., e Hepler, O. E.: Chromogenic bacteria with a case report of a fatal infection caused by *Serratia marcescens*, *Quart. Bull. Northw. Univ. Med. School*, 28(4):366, 1954.
- (71) Thiago de Mello, M.: Aerossóis infectantes em técnicas bacteriológicas, *Ciência e Cultura*, 6(4):201-202, 1954.
- (72) Decker, H. M., *et al.*: Spun glass air filters for bacteriological cabinets, animal cages, and shaking machine containers, *Jour. Bact.*, 63(3):377-383, 1952.
- (73) Short, D. J.: Methods used for maintenance of laboratory animals by the National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, England, Animal Care Panel, 5th Annual Meet., 1954, p. 127-134.
- (74) Trexler, P. C., e Reynolds, L. I.: Flexible film apparatus for the rearing and use of germfree animals, *Appl. Microb.*, 5(6):406-412, 1957.
- (75) Buckland, F. E. *et al.*: Scrub-typhus vaccine. Large scale production, *Lancet*, 8:734-737 (dbre.) 1945.
- (76) Ende, M. van den: An apparatus for the safe inoculation of animals with dangerous pathogens, *Jour. Hyg.*, 43(3):189-195, 1943.
- (77) Phillips, G. B., *et al.*: Portable inexpensive plastic safety hood for bacteriologists, *Appl. Microb.*, 3(4):216-217, 1955.
- (78) Shepard, C. C., *et al.*: A protective cabinet for infectious disease laboratories, *Jour. Lab. Clin. Med.*, 30(8):712-716, 1945.
- (79) Travassos, J., e Vallejo-Freire, A.: Criação artificial de *Amblyoma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa, *Mem. Inst. Butantan*, 18:145-235, 1944-1945.
- (80) Decker, H. M., *et al.*: Time temperature studies of spore penetration through an electric air sterilizer, *Appl. Microb.*, 2(1):33-36, 1954.
- (81) Thiago de Mello, M., e Silva, N. P. M.: Observações não publicadas, 1954.
- (82) Middlebrook, G.: An apparatus for airborne infection in mice, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 80:105-110, 1952.
- (83) McDaniel, L. E., e Long, R. A.: Laboratory equipment for testing filtering materials for air sterilization, *Appl. Microb.*, 2(4): 240-242, 1954.

- (84) Decker, H. M., *et al.*: Removal of bacteria and bacteriophage from the air by electrostatic precipitators and spun glass filter pads, *Heating, Piping & Air Conditioning*, 125-128, obre., 1951.
- (85) Harstad, J. B., *et al.*: Use of ultraviolet irradiation in a room air conditioner for removal of bacteria, *Appl. Microb.*, 2(3):148-151, 1954.
- (86) Fulton, J. D., *et al.*: Germicidal aerosols. Discussion of investigations in development of a liquefied gas germicidal aerosol formula, *Soap & San. Chem.*, 24(5):125-127, 157-159, 1948.
- (87) Klarman, E. G.: Hospital infection and environmental disinfection, *Soap & Chem. Spec.*, 35(3):101-110, 1959.
- (88) Lester, W., Jr., e Dunklin, E. W.: Residual surface disinfection. I. The prolonged germicidal action of dried surfaces treated with orthophenylpheno, *Jour. Inf. Dis.*, 96(1):40-53, 1955.
- (89) Spaulding, E. H.: Chemical disinfection in the operating room, *Military Med.*, 123(6): 437-443, 1958.
- (90) Bogue, J. Y.: Some aspects of modern laboratory design, *Endeavour*, 8(29):38-42, 1949.