

# BACILOS ÁLCOOL-ÁCIDO-RESISTENTES NA ÁGUA DO LAGO DO ALEIXO

Júlia Ignez SALEM\*

Ozório J. M. FONSECA \*\*

**RESUMO** — Relata-se a presença de bacilos álcool-ácido-resistentes na água do lago do Aleixo, local habitado por uma comunidade de hansenianos. O ambiente físico-químico do lago é descrito em um ciclo anual e procura-se relacionar a qualidade da água à maior ou menor frequência de micobactérias detectadas. Propõe-se o prosseguimento do trabalho nesse sistema lacustre, direcionado mais especificamente para a caracterização desses microrganismos e determinação de sua viabilidade.

**Palavras chave:** Bacilos álcool-ácido-resistentes. Ecologia.

## 1 INTRODUÇÃO

No estudo da qualidade da água, o conceito de organismos indicadores inclui qualquer organismo que responda a uma alteração das condições naturais. Essa abrangência é reduzida se o problema está voltado para finalidades sanitárias, quando então, uma quantidade menor de organismos é utilizada. O Standard Methods<sup>12</sup> determina, para exame microbiológico de verificação de potabilidade de água, o estudo de vários grupos de microrganismos, que são ampliados quando o enfoque é de águas recreacionais. A rotina dos laboratórios de controle, no entanto, por questões técnicas e operacionais utiliza uma quantidade menor de organismos, restringindo-se, na maioria, à determinação de coliformes totais, coliformes fecais e estreptococos fecais.

As micobactérias não estão listadas como indicadores microbiológicos de

qualidade da água embora várias espécies patogênicas ao homem, tenham sido isoladas de corpos de água. Dart & Stretton<sup>1</sup> relatam que *Mycobacterium tuberculosis*, *M. balnei (marinum)* e *M. bovis* estão associadas ao ambiente aquático. Esse fato assume importância maior em virtude de esses bacilos serem resistentes às condições do meio aquático. Rhines, citado por Dart & Stretton<sup>1</sup> conseguiu manter por 73 dias, uma cepa de *M. tuberculosis* isolada de ave, em ambiente aquático, o que demonstra uma sobrevivência suficientemente grande para colocar a água como uma fonte de infecção humana dessa micobacteriose. Rodier<sup>9</sup> refere-se à presença de álcool-ácido-resistentes, colocando esses bacilos, como organismos a serem analisados em controles de qualidade de água.

O ambiente parece estar, assim caracterizado como um reservatório de micobactérias. Kazda *et al*<sup>4</sup> revelaram a

(\*) Médica, pesquisadora-chefe da Divisão de Hanseniose do Departamento de Ciências Médicas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Estrada do Aleixo, km 3, C.P. 478, CEP 69000 — Manaus, AM — Brasil.

(\*\*) Biólogo, pesquisador da Divisão de Limnologia do Departamento de Biologia Aquática e Limnologia do INPA.

presença desses bacilos, cultiváveis e não cultiváveis em meios convencionais, associados à vegetação muscosa da costa da Noruega, região endêmica de hanseníase, no passado. Os experimentos laboratoriais com inoculação em pata de camundongo levaram os autores a concluir sobre a possibilidade de haver uma fonte natural de *Mycobacterium leprae*, um organismo que possui atividades enzimáticas auto-tróficas<sup>4</sup> capazes de o manter viável na natureza.

Na Amazônia a hanseníase é doença, endêmica atingindo níveis elevados. Segundo dados do Centro de Dermatologia Tropical e Venereologia "Alfredo da Matta", a prevalência no Estado do Amazonas é de 9,21/1000 hab., o que confere a esse Estado, um dos maiores índices dessa patologia no país. Laurenti<sup>6</sup> situa a hanseníase no Brasil segundo áreas geográficas com certas características climáticas, ressaltando a Amazônia como a região de maior endemicidade. Evidentemente o clima não é colocado como fator de prevalência mas como agente condicionador de padrões culturais e étnicos<sup>8</sup>. Esse é o quadro que parece configurar a história natural dessa doença que atinge mais intensamente certas regiões geográficas, onde o subdesenvolvimento e as precárias condições de qualidade de vida, obrigam o homem a estar mais ligado ao ambiente natural e conseqüentemente em contato mais assíduo com o possível reservatório extra-humano. O agente etiológico, como parte da biocenose, age na cadeia de interrelacionamento das populações na comunidade e estabelece aí a nidalidade da endemia.

Este trabalho constitui a primeira tentativa de encontrar um elo entre as características do ecossistema amazônico e a alta prevalência regional de hanseníase, buscando definir um foco natural do agente etiológico, uma forma

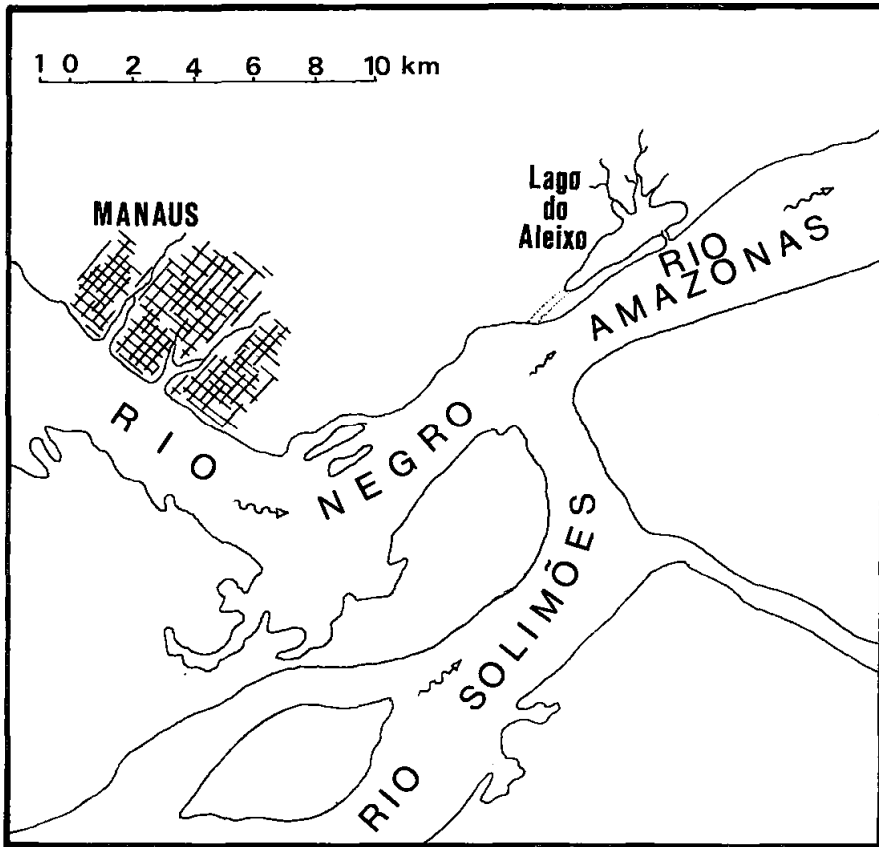
de demonstrar que a endemicidade do mal de Hansen pode ter uma de suas raízes na paisagem, permitindo defini-lo nosologicamente como uma doença ambiental.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 O ambiente de coleta

O lago do Aleixo é um sistema lateral da margem esquerda do rio Amazonas logo abaixo da confluência com o rio Negro (Fig. 1). Apresenta características morfológicas semelhantes a todos os lagos de várzea existentes ao longo do eixo Solimões-Amazonas com a diferença de receber, durante o ciclo anual, água dos igarapés de floresta que drenam para sua bacia, do rio Negro e do rio Amazonas. Essa mistura de águas com propriedades físico-químicas bastante diversas, confere ao lago, marcantes alterações na qualidade do ambiente tanto durante o ano, como em transectos horizontais.

Situado a cerca de 15 km a jusante de Manaus, em sua margem norte de terras altas, foi construído, na década de 60, o hospital colônia Antonio Aleixo, para onde foram transferidos, na época, os hansenianos do Isolamento Belisário Pena (Paricatuba). O número de doentes chegou a 1.462 internos no ano de 1968<sup>13</sup>. Os enfermos com alta hospitalar, gradativamente ocuparam as margens do lago, próximo ao hospital, onde se constituiu uma comunidade de egressos e para onde afluíram, também, doentes sem controle de várias regiões da Amazônia, que habitam casas de madeira sobre palafitas ou flutuantes. No local, em um recenseamento, foram registrados 422 doentes sem controle, fazendo do lago o reduto final do efluente da comunidade.



**FIGURA I** — Mapa de localização do lago do Aleixo.

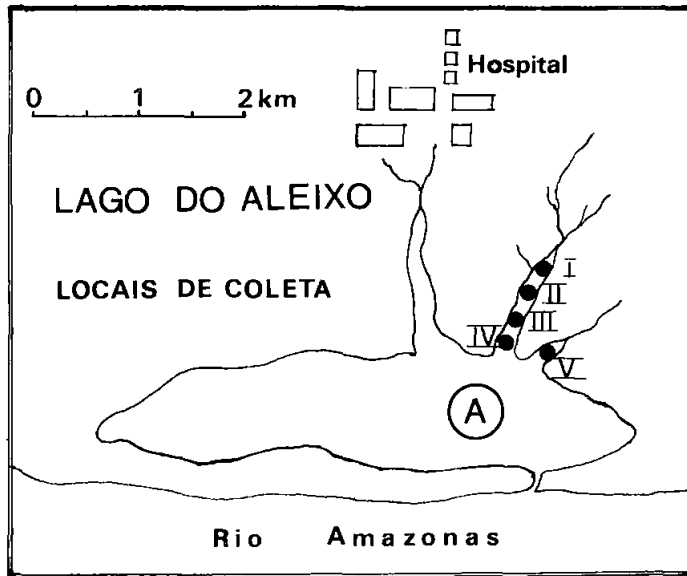
## 2.2 Material

Entre janeiro e dezembro de 1977 procedeu-se a coleta de amostras de águas de vários locais do lago, sendo que um deles era fixo, marcado por um sistema de flutuadores (Local A, Fig. 2) e os demais apenas referenciados por pontos na margem (Locais I, II, III, IV e V, Fig. 2). Do local A foram retiradas amostras para análise físico-química e microbiológica das profundidades 0, 1, 2, 5 m e fundo (F), enquanto dos demais locais eram retiradas amostras de superfície e de 1 m

de profundidade, apenas para verificação de B.A.A.R.

## 2.3 Métodos

Nas amostras do local A foram medidos os seguintes parâmetros: temperatura, penetração de luz, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, alcalinidade total, demanda bioquímica de oxigênio ( $DBO_5$ ), demanda química de oxigênio, cálcio, material húmico, bactérias saprobiontes totais, coliformes totais e bacilos álcool-ácido-resistentes.



**FIGURA 2 — Mapa dos locais de coleta de amostras.**

Nas amostras dos locais I, II, III, IV e V eram procurados apenas bacilos álcool-ácido-resistentes.

A temperatura foi medida com termômetro colunar de mercúrio 0-50°C ; a penetração de luz com disco de Secchi de 25 cm de diâmetro ; o pH com potenciômetro Sargent Welch modelo LS ; a condutividade elétrica com condutivímetro WTW modelo LF 54 e as medidas convertidas para 20°C ; o oxigênio dissolvido e o DBO<sub>5</sub> foram determinados pelo método de Winkler; a demanda química de oxigênio foi analisada pelo método do KMnO<sub>4</sub>, a alcalinidade total

pelo método do indicador laranja de metilo e o cálcio com o indicador murexida<sup>11</sup> e para os ácidos húmicos usou-se o método de Santos & Santos<sup>10</sup>. Os minerais totais foram calculados a partir de valores da condutibilidade elétrica pelos fatores de Richard & Van Cu<sup>7</sup> e o percentual de saturação de O<sub>2</sub>,

pela fórmula da solubilidade do oxigênio.

As bactérias totais foram contadas sobre filtros de membrana Sartorius de nitrato de celulose de 0,2µm de porosidade após incubação por 48 horas a 35°C sobre o meio "standard plate count" 12 a partir de alíquotas de 0,1 e 1,0 ml. Os coliformes totais foram contados sobre filtro de membrana de nitrato de celulose de 0,45µm de porosidade, após incubação por 24 horas a 35°C sobre o meio Endo Broth MF (Difco) .

Para a verificação da presença de BAAR tomavam-se 10 ml da amostra que eram colocados em tubos e centrifugados a 1.500 r.p.m. por 10 minutos. Com pipetas de Eppendorf retiravam-se 3 alíquotas de 100 do sobrenadante e do sedimento que eram colocadas sobre lâminas de vidro, secas ao ar, fixadas pelo calor e coradas pelo método

de Ziehl-Neelsen. As preparações eram observadas ao microscópico com 1500 x de aumento (imersão) registrando-se a presença de bacilos isolados ou em grupos (globias). Do material centrifugado foram realizadas tentativas de cultivo em meios de Lowenstein Jensen *egg*, Middlebrook, 7H10 e 7H9<sup>14</sup>.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1. *Temperatura:*

Não há grandes variações térmicas na água do lago do Aleixo. Durante o ano o menor registro foi de 27,3°C nos meses de fevereiro e março a 3,8 e 6,3m de profundidade respectivamente, e o maior de 33,1°C na água superficial do mês de novembro. Na coluna de água, em cada mês, as diferenças térmicas entre as profundidades não ultrapassaram 2,8°C mostrando uma homogeneidade térmica acentuada.

#### 3.2 *Penetração de Secchi*

As medidas de disco de Secchi variaram de 0,7 a 1,3m com as menores no mês de março quando as águas barrentas do Solimões invadem o lago, e em outubro quando o lago, bastante raso, é revolvido pelo vento que suspende os sedimentos do fundo diminuindo a transparência.

#### 3.3 *pH*

O perfil médio anual mostra a coluna de água com pH bastante uniforme embora as medidas durante o ano tenham variado de 4,7-7,2 como consequência do sistema de mistura dos vários tipos de água. Os maiores índices são no mês de abril como consequência da maior influência do Solimões.

#### 3.4 *Condutividade elétrica*

Esse parâmetro reflete bem a entrada de água do Amazonas que

aumenta a condutibilidade elétrica do sistema nos meses de março e abril, caindo depois, quando cessa a influência, para valores mais baixos, que se mantêm bastante estáveis pelos meses subseqüentes (Fig. 3). A variação das medidas vai de 6.6 a 32.9  $\mu\text{S}20.\text{cm}^{-1}$ . A mineralização da água, a partir desses valores<sup>7</sup> varia de 9,0 a 44,9 mg de minerais totais por 1.000 ml.

#### 3.5 *Oxigênio dissolvido*

De um modo geral não há deficiência de Oxigênio no lago do Aleixo. Apenas as amostras de fundo, de janeiro e fevereiro apresentaram valor nulo de  $\text{O}_2$  mas em contrapartida nesses mesmos meses a água das camadas superiores apresentavam índices elevados de saturação entre 95,2 e 117,8%.

#### 3.6 *Demanda bioquímica de Oxigênio (DBO<sub>5</sub>)*

Não é grande o consumo bioquímico de  $\text{O}_2$ . O  $\text{DBO}_5$  variou de 0,4 a 60,7% do Oxigênio inicial com uma média anual de 24,6%. O maior consumo médio na coluna foi no mês de março (2,06mg/1), a maior demanda por amostra foi a Om, em novembro (3,89mg/1 — 60,7%) embora em termos percentuais o maior consumo do perfil tenha sido em dezembro, quando 30,7% dos 5,45mg de  $\text{O}_2/1$  da coluna foram consumidos.

#### 3.7 *Demanda química de Oxigênio (DQO)*

Há, em quase todas as amostras, uma demanda química superior ao Oxigênio disponível na amostra, principalmente na cheia quando o rio Negro invade o lago levando grande quantidade de matéria orgânica. Os valores determinados variam de 2,8 a 27,2mg  $\text{O}_2/1$  com a maior parte dos valores situados acima da concentração de Oxigênio da amostra.

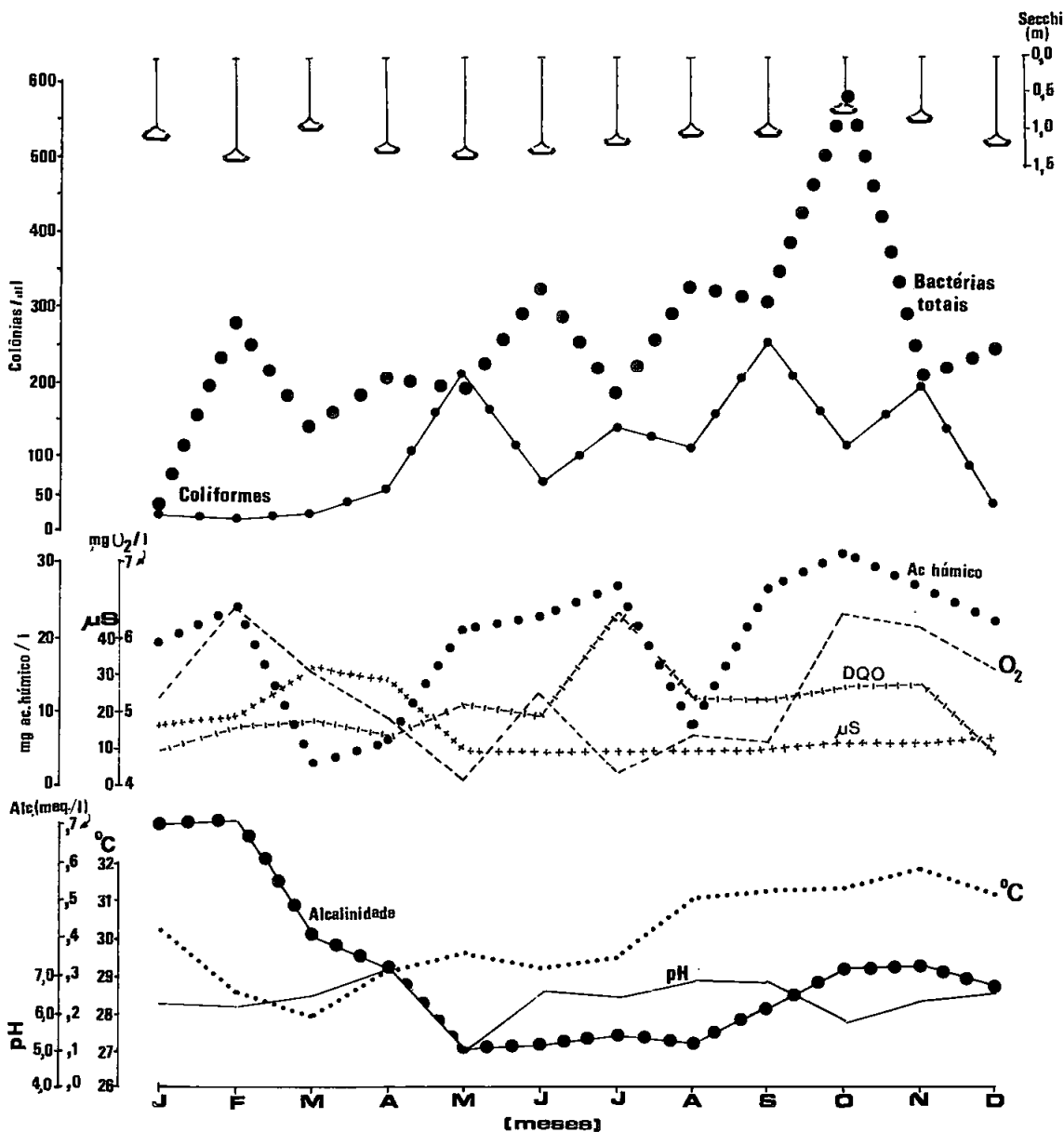


FIGURA 3 — Gráfico dos valores médios mensais de alguns parâmetros físico-químicos da água do lago do Aleixo (jan.-dez. — 1977).

### 3.8 Alcalinidade total

Normalmente muito baixa, a alcalinidade que na Amazônia é devida principalmente à  $\text{HCO}_3^-$ , variou de 0,1 a 1,1 meq/l com os valores mais altos entre janeiro e abril.

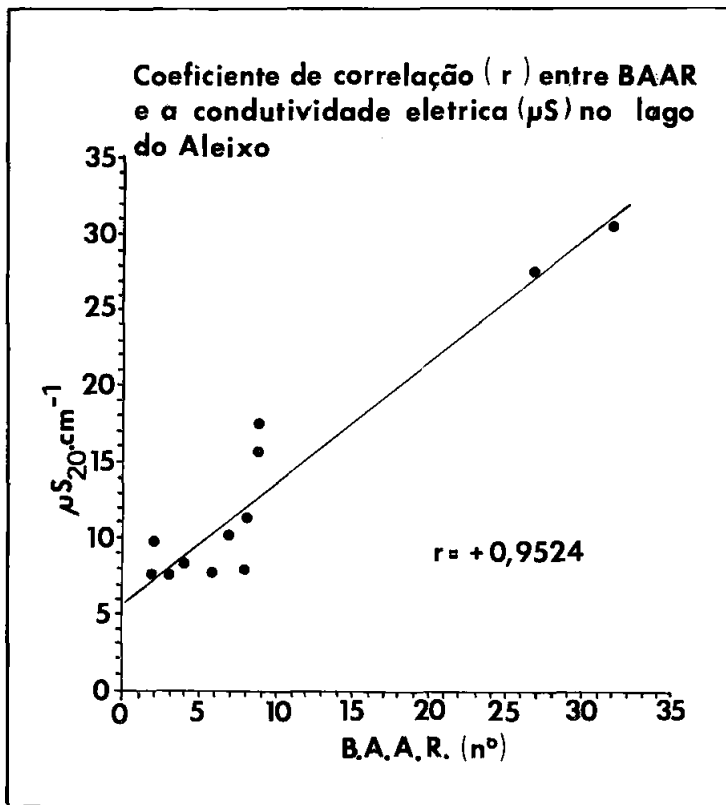
### 3.9 Cálcio

A determinação desse cation revela, nesse lago, duas fontes principais: uma a água do Amazonas, mais rica em nutrientes que eleva os valores para até 0,34 e 0,37mg/l em março e abril. A outra é o revolvimento da coluna de água que suspende o produto de remineralização no fundo e enriquece endogenamente a água nos meses de outubro (0,31mg/l), janeiro (0,35mg/l) e fevereiro (0,29mg/l). Nos demais me-

ses a quantidade de  $\text{Ca}^{2+}$  é nula (0,00mg/l) sendo que em dezembro a média da coluna é de 0,05mg/l.

### 3.10 Material húmico

O rio Negro carrega grande quantidade de ácidos húmicos (húmico e fúlvico) em suspensão o que lhe confere características próprias tais como cor, transparência e potencial hidrogeniônico, entre outras. Com a invasão por esse rio, na cheia, o lago apresenta muitas similaridades com o rio. Em março e abril, quando o Amazonas, pobre em material húmico, entra no lago, as concentrações são reduzidas até o limite mínimo (0,00mg/l) mas alcançando, na água alta, valores de até 59,03mg/l.



**FIGURA 4** — Gráfico do coeficiente de correlação (r) entre SAAR e a condutividade elétrica ( $\mu\text{S}$ ) no lago do Aleixo.

3.11 *Bactérias totais e coliformes*

Num ambiente de extrema variabilidade como o descrito, é de se supor que o número de bactérias heterotróficas viáveis seja reduzido. Os limites de tolerância, precisariam ser muito amplos para suportar variações tão grandes dos fatores ecológicos.

Amplitude de 20 a 960 organismos/ml é quantidade bastante reduzida para um corpo de água com bastante matéria orgânica degradável, e isso pode explicar os baixos valores de DBO<sup>5</sup>. Em outubro, o revolvimento da coluna, traz para a água livre, microrganismos do sedimento e isso explica o aumento con-

siderável do número de colônias/ml nesse mês (Fig. 3).

Quanto aos coliformes totais, apareceram em número elevado durante o ano na coluna de água chegando mesmo, em maio, a ultrapassar a quantidade de bactérias totais. A variação, por amostra, foi de 0 a 1050 colônias/ml (105.000 col/100ml) um número muito elevado para águas naturais da Amazônia.

3.12 *Bacilos álcool-ácido resistentes*

A figura 5 resume os resultados da pesquisa de B.A.A.R. nas águas do lago do Aleixo.

estações	Prof. (m)	M E S E S																							
		J		F		M		A		M		J		A		S		O		N		D			
		G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I		
A	0	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+
	1	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
I	0	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	
	1	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
II	0	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
III	0	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
IV	0	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	1	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
V	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	1	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+

G=bacilos em globias  
(+)=presença

I=bacilos isolados  
(-)=ausência

FIGURA 5 — Quadro da presença de bacilos álcool-ácido-resistentes nas estações de coleta do lago do Aleixo (jan.-dez. — 1977):



Conferindo o valor 1 para bacilos isolados e valor 2 para a presença de globias, obtem-se um quadro numérico (Fig. 6), que possibilita a relação com os fatores físico-químicos. É marcante a maior incidência desses achados nos meses de março e abril. Em março eles

apareceram em 80% das amostras coletadas e em abril todas as amostras (100%) revelaram bacilos isolados e/ou em globias, caindo verticalmente em maio para apenas 13,3% e permanecendo com baixos percentuais durante os outros meses.

estações	Prof. (m)	MESES																							
		J		F		M		A		M		J		J		A		S		O		N		D	
		G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I
A	0	2	1	2	1	2	1	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	1	0	0	0	1
	1	2	1	2	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1
	2	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	F	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
I	0	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
II	0	0	0	0	0	2	1	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
III	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
IV	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
V	0	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Sub-total		6	3	6	3	20	12	12	15	4	2	2	2	0	3	0	2	2	6	0	7	0	2	0	8
Total/mes		9		9		32		27		6		4		3		2		8		7		2		8	

G=bacilos em globias I - bacilos isolados  
 2=expressa o valor dado para a presença de bacilos em globias  
 1=expressa o valor dado para a presença de bacilos isolados  
 0=expressa ausência de bacilos

FIGURA 6 — Quadro mostrando a expressão numérica da presença de bacilos álcool-ácido-resistentes nas estações de coleta do lago do Aleixo (jan.-dez. — 1977).

#### 4 DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A presença de bacilos álcool-ácido resistentes na água do lago do Aleixo contém uma forte indicação de ser a água um importante reservatório de bacilos oriundos de pacientes com mal de Hansen. Esse fato abre uma discussão sobre o problema da epidemiologia da hanseníase na Amazônia e conduz à abertura de um caminho de estudos em torno da ecologia desse microrganismo. Além disso, leva à reflexão sobre a crença dos habitantes do interior que afirmam serem alguns peixes responsáveis pela transmissão da doença. Essa associação entre água (peixe) e hanseníase feita pelos nativos, pode conter ensinamento baseados na experiência ecológica vivida durante centenas de anos, onde a convivência com o meio e a doença pode inferir deduções extremamente lógicas.

O Aleixo é, sem dúvida, um corpo de água com todas as possibilidades de ser um reservatório de *Mycobacterium leprae*. A presença de bacilos álcool-ácido-resistentes agrupados formando globias muito semelhantes às encontradas em material retirado de pacientes com mal de Hansen, sugere uma origem humana para esses microrganismos. Além disso, amostragem idêntica foi realizada em outros locais (lagos Castanho, São Sebastião e Cristalino) e não revelou presença de micobactérias.

Há uma relação forte entre a expressão numérica da presença desses bacilos (Fig. 6) e os valores médios de condutividade elétrica conforme demonstrado na figura 4 ( $r= 0,9524$ ). É provável que algum fator, tal como nitrato para as bactérias em geral exerce alguma proteção à integridade desses organismos no ambiente aquático. Quando esse fator desaparece pela mudança da qualidade da água, ou cai a níveis não detectáveis pelos métodos utilizados, reduz-se o encontro de BAAR nas amostras. Estaria assim a presença desses microrganismos limitada não pela fonte que é contínua mas pelos condicionantes da qualidade físico-química da água.

A viabilidade desses organismos e o tempo de sobrevivência no ambiente aquático é assunto para um campo de investigação vasto. De qualquer forma a tentativa de cultivá-los em meio para micobactérias<sup>14</sup> resultou infrutífera e isso tanto pode indicar que esses bacilos não são cultiváveis em meios artificiais de cultura, como serem todos eles inviáveis por não terem resistido às condições do meio ambiente.

Como o enfoque do trabalho tinha maior tendência limnológica, pesquisas mais dirigidas para o problema aqui enfocado, incluindo inoculação em pata de camundongo e preparação de antígenos para testes *in vivo* em pacientes virchowianos, deverão ser conduzidas.

ABSTRACT — The presence of acid-fast bacilli in the waters of the lake of Aleixo is recorded. This site is a hanseniasis colony. The physical-chemical environment of this lake is described by an annual cycle and it is intended to relate the quality of the water to the highest or to the lowest frequency of detected mycobacteria. It is suggested that the work in this lake system should be continued towards a more specific characterization of these microorganisms and the determination of their viability.

**Key words:** Acid fast bacilli. Ecology.

## REFERÊNCIAS

- 1 DART, R.K. & STRETTON, R.J. *Microbiological aspects of pollution*. Netherlands Elsevier, 1977.
- 2 GOLTERMAN, H.L. & CLYMO, R.S. *Methods for chemical analysis of freshwater*. Glasgow, Blackweel Scientific Publications, 1971.
- 3 KATO, L. Autotrophism of an "intracellular parasite" *Mycobacterium leprae*. *Can. J. Publ. Health*, 64: 42-46, 1973.
- 4 KAZDA, J.; IRGENS, L.M.; MÜLLER, K. Isolation of non-cultivable acid-fast bacilli in Sphagnum and moss vegetation by foot pad technique in mice. *Int. J. Lepr.*, 48(1) :1-6, 1980.
- 5 LAMANNA, C.; MARLETTE, M.F.; ZIMMERMANN, L. *Basic bacteriology*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1971.
- 6 LAURENTI, R. Geografia médica de algumas infecções bacterianas. In: LACAZ, C.S.; BARUZZI, R.G.; SIQUEIRA JR., W. Introdução à geografia médica do Brasil. São Paulo, Edgard Blucher/Ed. Universidade de São Paulo, 1972. cap.17, p.398-423.
- 7 RICHARD, C. & VAN CU, N. Relation entre la résistivité d'une eau et son taux de mineralization. *L'eau*, 1: 22-24, 1961.
- 8 RISI, J.B. Frequency of clinical types of leprosy according to the natural regions of Brazil. *Int. J. Lepr.*, 16: 246-257, 1947.
- 9 RODIER, J. *Analysis of water*. Israel, Haltead, 1975.
- 10 SANTOS, U.M. & SANTOS, A. Método para investigações comparativas sobre materiais húmicos nas águas naturais da região Amazônica. *Bol. INPA. Pesquisas florestais* (7) :1-4, 1970.
- 11 SCHWOERBEL, J. *Métodos de hidrobiologia*. Madrid, H. Blume, 1975.
- 12 STANDARD methods for the examination of water and wastewater. Washington, APHA, AWWA, WPCF, 1975.
- 13 TALHARI, S.; AGUIAR, A.P.; MORAES, T.T.; SPENERS, S. *Hanseníase no Estado do Amazonas. Histórico da desativação do leprosário*. Manaus, Faculdade de Medicina da Universidade do Amazonas, 1980. [mimeografado].
- 14 VESTAL, A.L. *Procedures for the isolation and identification of mycobacteria*. Atlanta, U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1977. 118p. (Public Health Service Publication, 8230)

---

Recebido para publicação em outubro de 1981: aceito para publicação em dezembro de 1981.