

## ALGUMAS OBSERVAÇÕES SÔBRE O MODO DE AÇÃO DO 4-4'-DIAMINODIFENILSULFONA NA LEPRO MURINA

W. A. HADLER\* e L. M. ZITI\*\*

O mecanismo de ação das sulfonas na lepra humana e murina é pouco conhecido. Admite-se, por analogia, que o 4-4'-diaminodifenilsulfona (DDS) atuaria, na lepra, de modo comparável aos sulfonamídicos nas estreptococias, ou de forma idêntica às sulfonas na tuberculose experimental. O espectro de ação das sulfonas é semelhante ao dos sulfonamídicos; ambos são antagonizados pelo ácido para-aminosalicílico<sup>1</sup> e atuam, "in vitro" e "in vivo", como bacteriostáticos<sup>(10, 11, 3, 2, 1 e 12)</sup>

A observação histopatológica permitiu supor, em relação à lepra humana, que as sulfonas atuariam não diretamente sôbre o *M. leprae*, mas sôbre a célula leprosa, com alteração do seu metabolismo ; essa alteração repercutiria sôbre a vitalidade do bacilo, por tornar o meio endocelular impróprio às suas atividades vitais.<sup>13</sup>

Quando se administra DDS a ratos com lepra murina, os resultados do tratamento são tardiamente observados<sup>9</sup>. Durante os seis primeiros meses de tratamento, a intensidade e o aspecto das lesões são comparáveis nos ratos tratados e nos contrôles não tratados. Apenas posteriormente as diferenças são evidentes, apesar do tratamento ter sido efetuado em animais recentemente inoculados com o *M. lepraemurium*. Nessas circunstâncias, o DDS não parece dotado de ação bacteriostática nítida, em relação a essa micobactéria, uma vez que não inibe a evolução das lesões e não proporciona diferenças sensíveis entre os animais tratados e os contrôles, antes de um longo período. Além disso, foi verificado que em animais portadores de lepra murina com sete meses de evolução, isto é, possuidores de extensas lesões leprosas, os resultados do tratamento pelo DDS são, paradoxalmente, observados mais precocemente; três meses após o início do tratamento há diferenças evidentes entre os animais tratados e os contrôles<sup>9</sup>.

---

\* Departamento de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

\*\* Secção de Quimioterapia — Instituto Butantan — São Paulo.

Êsses fatos sugerem que o modo de ação do DDS, em relação ao *M. lepraemurium*, não é comparável ao verificado em relação ao *M. tuberculosis*, não sendo permitido estabelecer analogia.

Infelizmente o *M. lepraemurium* não é cultivável, o que impede a verificação do modo de ação das sulfonas "in vitro", obrigando à observação "in vivo", a qual é muito mais demorada e mais sujeita a causas de êrro.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 180 ratos Wistar, de ambos os sexos, que no início da experimentação apresentavam 60-90 dias de idade e pesavam  $103 + 27,5$  g. Os animais foram mantidos e alimentados sob condições expostas em trabalho anterior<sup>9</sup>, durante tôda observação.

Todos os ratos foram inoculados, por via intraperitoneal, com 0,5 ml de uma suspensão de *M. lepraemurium*, preparada a partir de triturado de lesões leprosas<sup>6</sup>. A quantidade de bacilos contida em 1 ml da suspensão injetada foi determinada por processo anteriormente descrito<sup>7</sup>.

Para o tratamento foi utilizado o 4-4'-diaminodifenilsulfona (preparado na Secção de Quimioterapia do Instituto Butantan), o qual foi administrado por via oral, em mistura com a ração. O tratamento foi iniciado no 7.º dia que sucedeu a inoculação. Cada rato recebeu 15g da mistura droga-ração, por dia; a pesagem das sobras permitiu o cálculo da dose diária ingerida.

Os animais em experimentação foram divididos em lotes (Quadro 1). Os ratos dos lotes 1A, 1B, 2B e 3E, foram inoculados com bacilos não submetidos prèviamente à ação do DDS; os do lote 2A foram injetados com bacilos obtidos de animais que haviam recebido 0,2% de DDS em mistura com a ração, durante 180 dias; os dos lotes 3A, 3B e 3C foram inoculados com material proveniente de ratos do lote 2A, isto é, contendo bacilos submetidos, por dois períodos de 180 dias cada, a tratamento sulfônico preliminar.

Os animais de todos os lotes foram pesados, periòdicamente, cada 10 dias. Durante todo o decorrer da experimentação foram anotadas as datas em que ocorreu a morte dos animais, o que permitiu o estudo da mortalidade. Porém, nos lotes 3A e 3B a observação foi interrompida no 802.º dia, tendo sido sacrificados, nessa data, 4 ratos do lote 3A e 2 do lote 3B.

Foi feito estudo estatístico da mortalidade, baseado na média de sobrevida e na análise de covariância do número de animais mortos em função do tempo, comparando-se os dados referentes aos 9 lotes.

Os animais mortos no decorrer da experimentação, ou eventualmente sacrificados, foram estudados macro e microscòpicamente.

Para o exame microscópico, o material foi fixado em formol a 10%, incluído em parafina e corado pela HE e Ziehl — Neelsen.

## RESULTADOS

Os resultados foram baseados nas eventuais modificações ponderais e da sobrevivência e, na intensidade das lesões anátomo-patológicas apresentadas pelos animais, durante a experimentação.

A evolução do pêso médio em função do tempo, nos diversos lotes, não revelou diferenças significativas.

A mortalidade, isto é, o número de animais mortos em função do tempo, foi analisada estatisticamente (Quadros 3 e 4 e gráfico), comparando-se os diversos lotes estudados. Foram verificadas diferenças entre os valores das médias da sobrevida nos 9 lotes (Quadro 2). A análise de covariância dos resultados da mortalidade (Quadro 3) e os valores dos coeficientes de regressão do número de animais mortos sobre o tempo (Quadro 4 e gráfico), mostram que os lotes estudados podem ser reunidos em três grupos: a) grupo constituído pelos lotes 1B, 2B e 3E, que reúne animais inoculados com *M. lepraemurium* não submetido previamente à ação do DDS, os quais não receberam tratamento (animais contrôles) ; neste grupo a sobrevivência média apresenta valores baixos (Quadro 2);

b) grupo formado pelos lotes 1A, 3D e 3C ; os lotes 1A e 3D compreendem animais inoculados com *M. lepraemurium* não submetido à ação do DDS, os quais foram tratados com DDS; o lote 3C engloba ratos inoculados com bacilos previamente submetidos à ação do DDS (por dois períodos de 180 dias cada um) e não tratados com sulfona; em todos os lotes deste grupo os valores da sobrevivência média são mais elevados que os do grupo anterior (Quadro 2) ;

e) grupo constituído pelos lotes 2A, 3A e 3B que compreende animais inoculados com *M. lepraemurium* previamente submetido à ação do DDS (por um ou dois períodos de 180 dias) e tratados com DDS; este grupo é o que apresenta os valores mais elevados para a sobrevida média (Quadro 2).

Os lotes componentes dos três grupos assinalados apresentam, entre si, diferenças não significativas para os valores da mortalidade (Quadro 3) e poluem coeficientes de regressão do número de animais mortos sobre o tempo com valores próximos (Quadro 4 e gráfico).

Esta primeira análise revela: 1) ratos inoculados com *M. lepraemurium* previamente submetido à ação do DDS e não tratados (lote 3C), comportam-se, quanto à sobrevida, de modo idêntico a animais injetados com bacilos não submetidos ao DDS e tratados (lotes 1A e 3D) ;

2) entre os lotes tratados com DDS, quando a concentração de sulfona na ração varia entre 0,2 e 0,3%, não são observadas dife-

**QUADRO 1**

Lotes	N.º de animais	Pêso médio dos animais no início da experimentação (em gramas)	Tipo de suspensão de <i>M. lepraemurium</i> inoculada	Quantidade aproximada de bacilos inoculados	Tratamento com DDS			Duração máxima do tratamento (em dias)
					Via de administração	% de DDS na ração	Dose média diária em mg	
1 A	20	119,0	Suspensão de lesões de ratos não tratados previamente	Não determinada	Oral	0,2	23,39	704
1 B	20	112,5	Suspensão de lesões de ratos não tratados previamente	Não determinada	—	—	—	—
2 A	20	99,6	Suspensão de lesões de um rato do lote 1 A (previamente tratado durante 180 dias)	5,5 mg	Oral	0,2	21,37	826
2 B	20	101,7	Suspensão de lesões de um rato do lote 1 B (não tratado previamente)	5,5 mg	—	—	—	—
3 A	20	100,3	Suspensão de lesões de um rato do lote 2 A (previamente tratado durante 180 dias)	5,5 mg	Oral	0,2	22,06	802 Sacrificados 4 animais
3 B	20	95,0	Suspensão de lesões de um rato do lote 2 A (previamente tratado durante 180 dias)	5,5 mg	Oral	0,3	30,67	802 Sacrificados 2 animais
3 C	20	92,8	Suspensão de lesões de um rato do lote 2 A (previamente tratado durante 180 dias)	5,5 mg	—	—	—	—
3 C	20	86,7	Suspensão de lesões de um rato do lote 2 B (não tratado previamente)	5,5 mg	Oral	0,3	30,72	802
3 E	20	87,1	Suspensão de lesões de um rato do lote 2 B (não tratado previamente)	5,5 mg	—	—	—	—

**QUADRO 2**  
**VALORES DAS MÉDIAS DE SOBREVIVÊNCIA NOS 9 LOTES DE ANIMAIS**

	Lote 1 A		Lote 1 B		Lote 2 A		Lote 2 B		Lote 3 A		Lote 3 B		Lote C		Lote 3 D		Lote 3 E	
Sobrevivência média	447 ±	42,0	294 ±	30,2	567 ±	44,4	276 ±	29,4	561 ±	40,7	597 ±	29,3	432 ±	33,9	468 ±	27,5	291 ±	29,3
Desvio Padrão	±	187,8	±	135,0	±	198,0	±	132,0	±	181,8	±	130,8	±	151,8	±	123,0	±	130,8

### QUADRO 3

#### COMPARAÇÃO DA MORTALIDADE (N.º DE ANIMAIS EM FUNÇÃO DO TEMPO) NOS 9 LOTES DE ANIMAIS RESULTADO DA ANÁLISE DE COVARIÂNCIA E PROVA DE SIGNIFICAÇÃO DAS MÉDIAS AJUSTADAS

Fonte de variação (tratamentos)		Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	P
Comparação global	Erro experimental	4756,0	170	28,0	15,13	< 0,01
	Prova de significação das médias	3391,0	8	423,9		
Comparação entre os lotes 1 B, 2 B, e 3 E (animais não tratados: controles)	Erro experimental	46,5	56	0,83	0,36	> 0,05
	Prova de significação das médias	0,6	2	0,30		
Comparação entre os lotes 2 A e 3 A, inoculados com bacilos previamente submetidos ao DDS e tratados com DDS	Erro experimental	163,4	37	4,40	0,18	> 0,05
	Prova de significação das médias	0,8	1	0,80		
Comparação entre os lotes 1 A e 3 D, inoculados com bacilos não submetidos ao DDS e tratados com DDS	Erro experimental	115	37	3,11	0,32	> 0,05
	Prova de significação das médias	1	1	1,00		
Comparação entre os lotes (1 A + 3 D) tratados com DDS e o lote (2 B + 3 E) controle não tratado; ambos inoculados com bacilos não submetidos ao DDS	Erro experimental	2092,1	77	27,17	42,13	< 0,01
	Prova de significação das médias	1144,7	1	1144,70		
Comparação entre o lote (2 A + 3 A + 3 B) inoculado com bacilos submetidos ao DDS e tratados com DDS e o lote (1 B + 2 B + 3 E) inoculado com bacilos não submetidos ao DDS e não tratados (controle)	Erro experimental	2194,4	117	18,75	60,28	< 0,01
	Prova de significação das médias	1130,2	1	1130,2		
Comparação entre o lote (1 A + 3 C + 3 D) e o lote (2 A + 3 A + 3 B)	Erro experimental	412,0	117	3,50	48,3	< 0,01
	Prova de significação das médias	170,0	1	170,00		
Comparação entre o lote 3 C, inoculado com bacilos submetidos ao DDS e não tratados com DDS e o lote 3 E controle	Erro experimental	234,9	37	6,35	7,89	< 0,01
	Prova de significação das médias	50,1	1	50,10		

QUADRO 4

CORRELAÇÃO E REGRESSÃO DO NÚMERO DE ANIMAIS MORTOS  
SÔBRE O TEMPO NOS 9 LOTES

Lotes	Coeficiente de correlação	Coeficiente de regressão	Erros de estimação		Equações de regressão
			Soma dos quadrados	Graus de liberdade	
1 A	0,9832	0,0256	15,0	18	$Y = -0,60 + 0,0256 x$
1 B	0,9942	0,0400	10,7	18	$Y = -0,26 + 0,0400 x$
2 A	0,9327	0,0199	100,4	18	$Y = -2,86 + 0,0199 x$
2 B	0,9917	0,0424	18,0	18	$Y = +2,30 + 0,0424 x$
3 A	0,9723	0,0202	45,6	18	$Y = -1,59 + 0,0202 x$
3 B	0,9829	0,0210	37,0	18	$Y = -3,01 + 0,0210 x$
3 C	0,9202	0,0262	186,4	18	$Y = +0,13 + 0,0262 x$
3 D	0,9621	0,0267	100,2	18	$Y = +0,90 + 0,0267 x$
3 E	0,9926	0,0405	14,6	18	$Y = +1,51 + 0,0405 x$
Total	0,9702	0,0291	494,6	162	$Y = -0,30 + 0,0297 x$

rencias no comportamento dos animais quanto à sobrevida, tanto em ratos inoculados com bacilos não submetidos ao DDS (lotes 1A e 3I), como em animais injetados com *M. lepraemurium* previamente submetido à ação do DDS, por um ou dois períodos de 180 dias (lotes 2A, 3A e 3B);

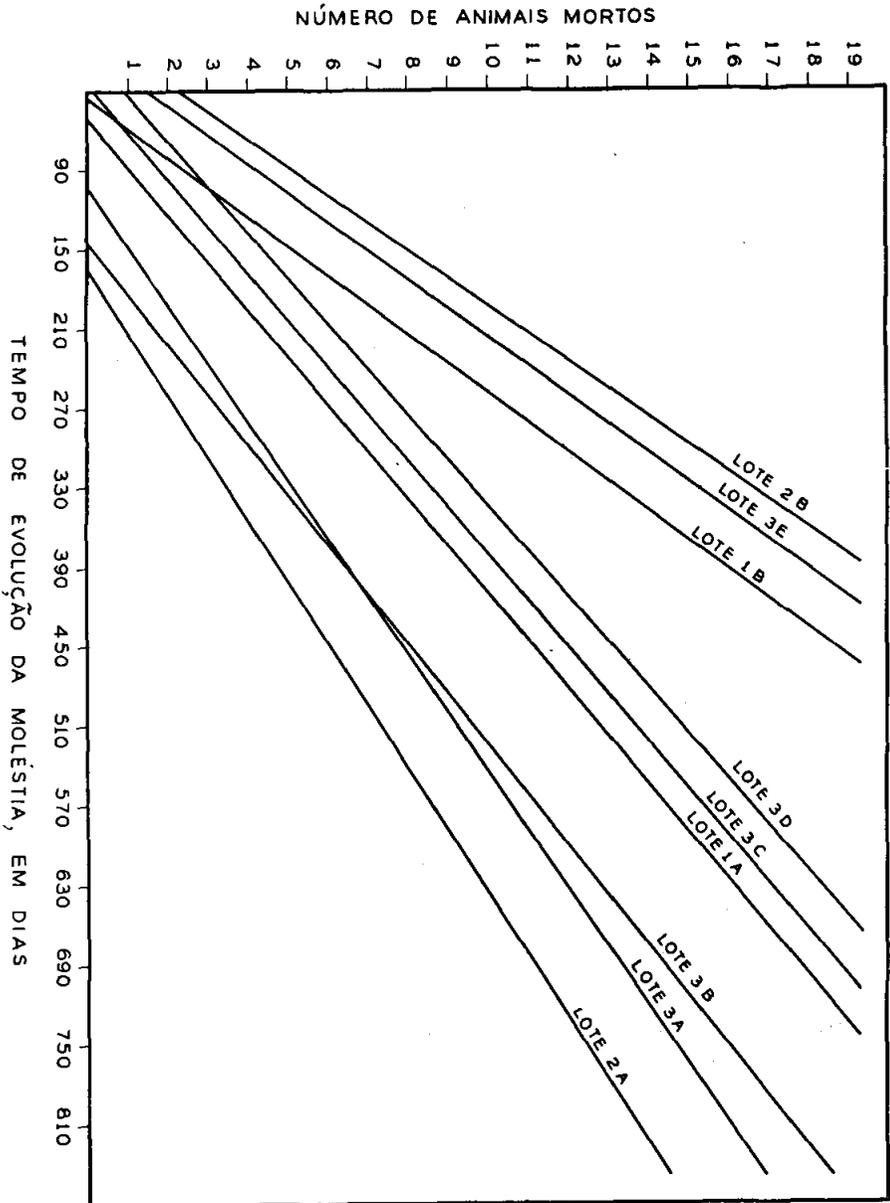
3) nos animais inoculados com bacilos submetidos à sulfona e posteriormente tratados, a sobrevida média é comparável, tanto no lote injetado com bacilos submetidos ao DDS por um período de 180 dias (lote 2A), como nos lotes inoculados com bacilos submetidos ao DDS por dois períodos de 180 dias (lotes 3A e 3B).

Os três grupos referidos apresentam diferenças significativas, quanto à sobrevida, quando comparados entre si (Quadros 2, 3 e 4 e gráfico), o que revela:

a) a sobrevivência média dos ratos inoculados com bacilos não submetidos ao DDS e tratados (lote 1A e 3D), é sensivelmente maior do que a dos controles não tratados (lotes 1B, 2B e 3E);

b) a sobrevida média dos ratos inoculados com *M. lepraemurium* submetidos previamente ao DDS e tratados (lotes 2A, 3A e 3B), é significativamente maior que a dos ratos injetados com bacilos não submetidos ao DDS e tratados com as mesmas doses de sulfona;

c) ratos inoculados com *M. lepraemurium* previamente submetidos ao DDS e não tratados (lote 3C), da mesma forma que animais injetados com bacilos não submetidos ao DDS e tratados (lotes 1ª e 3D), apresentam sobrevida média maior que a dos animais controles (lotes 1B, 2B e 3E) e menor que a dos ratos inoculados com



bacilos prèviamente submetidos ao DDS e tratados (lotes 2A, 3A e 3B).

Deve-se anotar que foram sacrificados no 802.º dia de experimentação, 4 ratos do lote 3A e 2 do lote 3B; êsse fato teve influência nos valores da média de sobrevida dêsses dois lotes, os quais seriam maiores se tivesse sido aguardada a morte natural de todos os animais.

O estudo anátomo-patológico, efetuado no decorrer da experimentação, mostra que a intensidade média das lesões provocadas pelo *M. lepraemurium* apresenta algumas diferenças nos lotes em estudo. A avaliação quantitativa da intensidade das lesões, baseada na observação macroscópica, histológica e baciloscóptica, é imprecisa, mas sugere relação inversa, entre a média de sobrevida e a média de intensidade das lesões nos diversos lotes. Êssa relação é pouco nítida até o 6.º mês de experimentação, mas torna-se evidente nos períodos mais tardios. Nessa época há diferenças histológicas entre as lesões dos animais tratados e os contrôles não tratados; nos primeiros são observados lesões em involução, cujos caracteres foram descritos anteriormente<sup>4</sup>. Os resultados anátomo-patológicos revelam que o aumento da sobrevivência está na dependência da evolução mais lenta da moléstia e, principalmente, do aparecimento de lesões em involução.

As diferenças macroscópicas e histológicas, entre os animais inoculados com bacilos prèviamente submetidos e não submetidos ao DDS e tratados, são pouco intensas. Nos primeiros, os aspectos histológicos devidos à involução das lesões são verificados mais precocemente e mais acentuados; o número e as dimensões das lesões são também menores.

Nos animais injetados com bacilos preliminarmente submetidos ao DDS e não tratados, a intensidade da moléstia é menor que a dos contrôles e maior que a dos ratos inoculados com *M. lepraemurium* prèviamente submetido ao DDS e tratados. Mesmo em ausência de tratamento são observadas, nos ratos injetados com bacilos submetidos ao DDS, lesões em involução, comparáveis às verificadas nos animais sob tratamento.

## DISCUSSÃO

O emprêgo do DDS no tratamento de ratos inoculados com *M. lepraemurium* aumenta significativamente a sobrevida em relação aos contrôles não tratados; a comparação entre as linhas de regressão da mortalidade revela que as diferenças são discretas até o 6.º mês de tratamento, confirmando os achados anátomo-patológicos verificados em idêntico período. A ação do DDS, portanto, só é nitidamente observada tardiamente, havendo um período em que

não é evidenciável pelo método utilizado. Êsse período parece longo demais para ser identificado ao "período de latência", observado por RIST<sup>10</sup> em relação ao *M. tuberculosis*. O *M. lepraemurium* parece reproduzir-se com lentidão, a julgar-se pela evolução das lesões nos animais experimentalmente inoculados; porém, até o 6.º mês de evolução 25% dos ratos inoculados e não tratados morrem e, os sobreviventes apresentam lesões intensas, em vários órgãos. É pouco provável que o "período de latência" perdure até uma época na qual 25% dos animais morrem devido a infecção.

Se o DDS fôsse dotado de ação bacteriostática nítida sobre o *M. lepraemurium*, os resultados do tratamento deveriam ser mais precoces. Além disso, a eliminação total de uma infecção, em animais submetidos a tratamento por substâncias que atuam como bacteriostáticos, está subordinada aos processos de defesa do hospedeiro; dêstes depende a destruição do agente infeccioso. Na lepra murina o organismo do hospedeiro tem importância muito limitada na eliminação do *M. lepraemurium*, uma vez que as células que iniciam a reação contra a infecção (macrófagos), terminam por se transformar em elementos que armazenam os bacilos (células leprosas), sem destruí-los<sup>5</sup>. O organismo do rato não corrobora na irradiação da moléstia, inclusive nas lesões da lepramurina em involução, verificadas em animais submetidos a tratamento<sup>4</sup>; nestas circunstâncias há degeneração da célula leprosa, que é concomitante com o aparecimento de alterações e diminuição numérica dos bacilos, mas o organismo se comporta passivamente, sem haver manifestação de defesa traduzidas por modificações morfológicas das lesões. Os fatos sugerem que o comprometimento dos bacilos é primário e ocorre em concomitância com a involução das lesões.

Com base nesses fatos é permitido supor que o DDS atua sobre a vitalidade do *M. lepraemurium*, produzindo alterações irreversíveis que podem, algumas vezes, culminar com a morte da célula bacteriana. É, provavelmente, por este motivo que, em ausência de tratamento, ratos inoculados com bacilos previamente submetidos ao DDS, a sobrevivência média é maior que em animais injetados com a mesma dose de bacilos não submetidos à ação de sulfona. Os primeiros apresentam moléstia cuja evolução é mais lenta, em relação aos animais controles e comparável à de animais injetados com bacilos não submetidos ao DDS, porém, tratados com sulfona. Além disso, são verificadas lesões em involução, nos animais injetados com bacilos previamente submetidos ao DDS e não tratados, as quais são acompanhadas de alterações e de redução numérica dos bacilos, sugerindo transtornos na vitalidade do *M. lepraemurium*. É também possível que seja por esse mesmo motivo que os animais dos lotes 2A, 3A e 3B (que receberam bacilos submetidos ao DDS e foram tratados), apresentam moléstia cuja evolução é ainda mais lenta, e cujas lesões entram precocemente em involução. Admitindo-se que o

DDS exerce ação exclusivamente bacteriostática não seria possível explicar êstes fatos.

A evolução mais lenta da lepra murina em ratos inoculados com bacilos previamente submetidos ao DDS e tratados (lotes 2A, 3A e 3B), em comparação com animais inoculados com micobactérias não submetidas ao DDS e também tratados, revela que o tratamento sulfônico prolongado não determina o aparecimento de resistência.

Admite-se que quando se submete, "in vivo", o *M. tuberculosis* por tempo prolongado à ação de sulfonas, podem surgir raças resistentes; essa hipótese é generalizada ao gênero *Mycobacterium*, mesmo que não tenha sido demonstrada "in vitro". Em relação à lepra humana e murina não se evidenciou a existência de raças de bacilos resistentes, mas a observação clínica tem assinalado casos que não respondem satisfatoriamente à medicação sulfônica; êstes casos poderiam estar na dependência de falha da absorção da substância empregada no tratamentos, isto é, depender da taxa de DDS livre no sangue, não significando sulfono-resistência, uma vez que não teria relação com alteração do comportamento enzimico da célula bacteriana.

#### SUMMARY

Some aspectos of the sulfone action on the murine leprosy were studied in rats, which were inoculated by the intraperitoneal route with 5, 5 mg of *M. lepraemurium* and then treated with 4,4'-Diamino-diphenylsulfone (DDS). The treatment was made by the oral route, 0,2 or 0,3% of DDS being added to the food

The animals were divided into the following lots:

Lot 1A — 20 rats treated with 0,2 % of DDS.

Lot 1B — 20 untreated control rats.

Lot 2A — 20 rats inoculated with bacilli obtained from an animal of the lot 1A, preliminarily treated with DDS during 180 days; these animals then received 0,2 % of DDS mixed with the food.

Lot 2B — 20 untreated control rats, which were inoculated with bacilli recovered from a rat of the lot 1B.

Lot 3A — 20 rats inoculated with bacilli recovered from an animal of the lot 2A, which had previously been treated with DDS for 180 days; afterwards these animals received 0,2 % of DDS in the food.

Lot 3B — 20 rats inoculated with the same material as the lot 3A, but afterwards treated with 0,3 % of DDS given with the food.

Lot 3C — 20 rats inoculated with same material as the lot 3A, and kept as untreated controls.

Lot 3D — 20 rats inoculated with bacilli obtained from an animal of the lot 2B; these rats were afterwards treated with DDS (0,3% in the food).

Lot 3E — 20 untreated control rats, inoculated with the same material as the lot 3D.

The results of the treatment were based upon the survival time and the intensity of the lesions.

The statistical analysis of the medium survival time in these lots of animals shows, that they constitute 3 groups. The lots which integrate these groups do not present significant difference when compared together. A first group comprises the control animals (lots 1B, 2B and 3E) ; a second group includes the animals inoculated with bacilli recovered from the control rats and then treated with DDS (lots 1A and 3D) and the animals inoculated with bacilli obtained from previously DDS treated rats, but with no further treatment (lot 3C). Finally a third group comprises the animals inoculated with bacilli obtained from previously DDS treated rats, which were treated with DDS afterwards (lots 2A, 3A and 3B).

Among these groups, however, there are significant differences ( $P < 0,01$ ) in the survival time.

The study of the leprosy lesions in the animals of these several lots shows, that the intensity of the infection is inversely proportional to the survival time, which means, that the survival time depends on the rate of evolution of the disease.

The DDS treatment of rats inoculated with *M. lepraemurium* seems to make the evolutive rate of the disease slower, the principal action of the sulfone does not appear to be due to bacteriostatic effect, because the results are very late and arise without active participation of the host tissue cells. The results suggest, that DDS produces an alteration of the vitality of the *M. lepraemurium*. In this way the preliminarily treated bacilli become altered and when inoculated in rats produce a disease with slow development even without further treatment. When in this instance the DDS treatment is established, the evolutive rate of the disease becomes still slower and the bacillary alterations seem to be more pronounced. On the other side the results obtained suggest, that during the chronic DDS treatment of the murine leprosy no sulfonerisistent organisms appear.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. — BROWNLEE, G., GREEN, A. F. & WOODBINE, M. — Brit. J. Pharmacol. 3: 15, 1948.
2. — FELDMAN, W. H. — J. Royal Inst. Publ. Health & Hyg. 9: 267, 297, 343, 1946.
3. — FELDMAN, W. H.; HINSHAW, H. C. & MOSES, H. E. — Am. J. Med. Sc. 207: 290, 1944.
4. — HADLER, W. A. — Rev. Bras. Leprol. 19: 75, 1951.
5. — HADLER, W. A. — Rev. Bras. Leprol. 21: 165, 1953.
6. — HADLER, W. A. & MAURI, A. C. — Rev. Bras. Leprol. 16: 139, 1948.
7. — HADLER, W. A. & ZITI, L. M. — Rev. Bras. Leprol. 21: 85, 1953.
8. — LIMA, L. S. — Estado atual da terapêutica da lepra. Monografia Serv. Nac. Lepra, São Paulo, 1953.
9. — MAURI, A. C.; HADLER, W. A. & CARVALHO, C. M. — Rev. Bras. Leprol. 19: 85, 1951.
10. — RIST, N. — Compt. rend. Soc. Biol. 130: 972, 1939.
11. — RIST, N.; BLOCH F. & HAMMON, V. — Ann. Inst. Pasteur 64: 203, 1940.
12. — SMITH, M. I.; JACKSON, E. L. & BAUER, H. — Ann. New York Acad Sc. 52: 704, 1949.
13. — SOUZA, P. R. DE & LIMA, M. S. — Rev. Bras. Leprol. 18: 159, 1950.