

## EMPREGO DE UM NOVO ANTIBIÓTICO (DEMETILCLORTETRACICLINA) NA MOLÉSTIA DE WEIL. RESULTADOS PRELIMINARES

Gildo Del NEGRO <sup>(1)</sup> e Dario YABUTA <sup>(2)</sup>

### RESUMO

No presente trabalho são registrados quatro casos de moléstia de Weil tratados com um novo antibiótico de largo espectro, do grupo das tetraciclina — o 7-cloro-6-demetilclortetraciclina ou demetilclortetraciclina — produzido por uma mutante do *Streptomyces aureofaciens* Duggar.

Nos quatro casos, o diagnóstico clínico de moléstia de Weil foi confirmado pela positividade da sôro-aglutinação específica, em título igual ou superior a 1/400. As doses totais de antibiótico empregadas foram, respectivamente, de 8,1 — 4,2 — 5,7 e 4,5 gramas. As melhoras subjetivas e objetivas foram rápidas. Não houve o aparecimento do segundo período febril nos três casos em que o tratamento se iniciou ao fim da primeira semana de doença; não ocorreram complicações; a tolerância pelo antibiótico foi ótima; e os quatro casos tiveram alta, curados, em condições satisfatórias.

### INTRODUÇÃO

Desde a descoberta da aureomicina (clortetraciclina) por DUGGAR, em 1948, numerosas pesquisas têm sido realizadas no sentido do desenvolvimento de novas raças de *Streptomyces aureofaciens*, com a finalidade da aquisição de novos conhecimentos sobre os processos metabólicos que ocorrem na biossíntese dos antibióticos. De milhares de culturas assim realizadas, foi obtida recentemente uma amostra daquele *Streptomyces* capaz de produzir dois antibióticos até então desconhecidos, pertencentes ao grupo das tetraciclina — a demetilclortetraciclina (DMCT) e a demiltetraciclina (DMT). A identificação desses novos agentes, devida a McCORMICK & col.<sup>12</sup>, ocorreu em 1957.

A demetilclortetraciclina, que difere da aureomicina pela ausência de um grupo metílico em sua fórmula química, mostrou-se altamente resistente à degradação pelos ácidos e álcalis e estudos preliminares indicaram que a administração oral da droga a indivíduos humanos produziam níveis sanguíneos mais elevados e mais duradouros que a tetraciclina. Daí sua maior potência de ação e, conseqüentemente, as doses muito menores usadas em clínica, quando comparadas às das demais tetraciclina. Estudos realizados em animais de laboratório mostraram que o novo antibiótico tem toxicidade praticamente nula, fato confirmado nas experimentações clínicas até aqui conhecidas. Trata-se de antibiótico absorvível pelo

Fac. Medicina da Univ. São Paulo — Inst. Med. Tropical — Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas (Prof. J. A. Meira).

(1) Assistente extranumerário.

(2) Doutorando interno.

tubo gastrointestinal, excretando-se lentamente pela urina. A dose média diária de demetilclortetraciclina para adultos é de 8 a 10 mg por quilo de pêso<sup>1, 8, 11, 17, 18</sup>.

Numerosas pesquisas de ordem experimental e clínica têm sido efetuadas nestes três últimos anos com a nova droga<sup>1, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 17, 18</sup>. Numa avaliação geral sobre a resposta *in vivo* de vários microrganismos à ação do antibiótico, SHAPIRO et al.<sup>15</sup> mostraram que a DMCT foi terapêuticamente eficaz em 85% das infecções nas quais o agente etiológico foi isolado e identificado. No relatório em aprêço, 259 amostras foram identificadas, pertencentes a 25 espécies diferentes de microrganismos patogênicos para o homem. Dêsses vinte e cinco, 15 responderam satisfatoriamente em todos os casos registrados e somente os gêneros *Proteus* e *Pseudomonas* responderam em menos de 2/3 dos casos. Infecções pelo *A. aerogenes* reagiram satisfatoriamente em 2/3 dos casos. E, de modo geral, acima de 50% de sucessos foram obtidos com todos os microrganismos, exceto duas espécies de estreptococo (o *S. anhemolyticus* e o *S. faecalis*), das quais se estudou um caso de cada. Os resultados clínicos coligidos por SHAPIRO & col. permitem, assim, concluir que a DMCT é, de modo geral, menos eficaz contra os microrganismos patogênicos do grupo entérico (*Coli*, *Proteus*, *Aerogenes* e *Pseudomonas*) do que contra aqueles habitualmente associados a infecções do aparelho respiratório, do trato geniturinário, etc., quando, então, é notavelmente eficiente.

Na Clínica de Doenças Tropicais e Infeciosas do Hospital das Clínicas de São Paulo (Serviço do Prof. J. Alves Meira), estamos investigando atualmente a ação da demetilclortetraciclina em diferentes infecções\*. No presente trabalho é nosso escopo apresentar os primeiros resultados obtidos com o novo antibiótico em 4 casos de leptospirose íctero-hemorrágica (moléstia de

Weil), pois até aqui desconhecemos qualquer referência sobre o assunto na literatura, no que diz respeito à investigação clínica. Existe uma referência de ordem experimental, devida a KUCK e REDIN<sup>10</sup>, sobre a ação protetora da demetilclortetraciclina contra infecção do embrião de galinha pela *L. ictero-hemorrhagiae*.

#### SÔMULA DAS OBSERVAÇÕES

CASO 1 — Duas semanas antes da internação, este paciente, de cor branca, com 57 anos de idade, que vinha trabalhando ultimamente em retirar areia de rio, apresentou súbitamente astenia, anorexia e dôres musculares, acompanhadas de febre. Cerca de uma semana após surgiram vômitos e icterícia com bilirrubinúria e obnubilção mental. O exame físico revelou tratar-se de paciente em mau estado geral, com temperatura de 38°C, pulso 100/min., pressão arterial 120×80, icterícia rubinica, intensamente desidratado e em pré-coma. A palpação do baço e do fígado não foram possíveis. As bulhas eram rítmicas, mas hipofonéticas; pulmões normais. Ausência de sinais de meningite.

Os exames de laboratório revelaram os seguintes resultados: *Hemograma* — Hb. 91%, leucócitos 20.400/mm<sup>3</sup>, neutrófilos jovens 2, bastonetes 8, segmentados 77, eosinófilos 0, linfócitos 10, monócitos 3. *Urina* — pigmentos biliares: positivo; urobilinogênio 1/40; hemácias 15/campo; leucócitos 50/campo; cilindros granulosos presentes. *Uréia no sangue* — 620 mg/100 ml. *Bilirrubinemia total* — 9,0 mg/100 ml de sêro. *Provas funcionais do fígado* — Hanger ++, turvação do timol 4,8 unidades McLagan, floculação do timol +. *Mucoproteínas no sêro* — 6,6 mg/100 ml. *Transaminase G-O* — 160 U/ml.

O quadro clínico, os exames de laboratório e a positividade da reação de sêro-aglutinação para *Leptospira ictero-hemorrhagiae* a 1/800 em 1-3-60 e a 1/1600 quatro dias depois, permitiram estabelecer o diagnóstico de moléstia de Weil.

*Evolução e tratamento* — No dia imediato ao da internação foram notadas várias petéquias na parede abdominal. Foi iniciado nesse dia tratamento com a demetilclortetraciclina — 900 mg nas primeiras 24 horas, isto é, 300 mg de 8 em 8 horas e, em seguida, 600 mg ao dia, 300 mg de 12 em 12 horas — tendo sido suspensa a droga 13 dias depois. Deve ser assinalado que imediatamente após a internação foram administradas ao paciente, por via venosa, 10 milhões de unidades de penicilina em 1000 ml de sêro glicofisiológico. No dia imediato a penicilina foi suspensa, iniciando-se a demetilclortetraciclina. Em 9-3-60, sete dias depois do início da medicação, começou a haver regressão da icterícia. O paciente não mais teve febre desde o dia em que iniciou a demetilclortetraciclina e durante

\* O antibiótico (Demetilclortetraciclina) para este e outros ensaios em andamento nos foi gentilmente cedido pelos Laboratórios Lederle.

os 34 dias de internação. A evolução da ureia sanguínea foi a seguinte: 2-3-60 — 620 mg; 5-3 — 462 mg; 7-3 — 372 mg; 10-3 — 153 mg; 22-3 — 62 mg; 30-3 — 46 mg. O paciente teve alta curado em 4-4-60 (ver tabela I).

**CASO 2** — Este paciente, de côr branca, operário braçal, com 18 anos de idade, seis dias antes da internação acordou pela manhã com febre, cefaléia, astenia e dores pelo corpo, predominantemente nos membros inferiores. No terceiro dia de doença, a sintomatologia se intensificou e em seguida apresentou náuseas e vômitos. Não notou icterícia. Referiu contato com ratos no local de trabalho e negou passado mórbido de importância. O exame físico mostrou indivíduo com escleróticas intensamente icterícias e conjuntivas hiperemiadas. Regular estado geral, abatido mas consciente. Temperatura de 37°C, pulso 84/min., pressão arterial 110×90. Icterícia generalizada e presença de petéquias ao nível da arcada ilíaca direita, parede abdominal e dorso. A compressão das massas musculares das coxas e panturrilhas despertava dor. Fígado a 1 dedo do rebordo costal e baço apenas percütível. Ausência de sinais neurológicos de comprometimento das meninges.

Os exames de laboratório revelaram os seguintes resultados: *Hemograma* — leucócitos 22.000/mm<sup>3</sup>, sendo neutrófilos jovens 2%, bastonetes 19, segmentados 61, eosinófilos 0, linfócitos 11 e monócitos 6. *Urina* — pigmentos biliares presentes, urobilinogênio 1/50, albumina 4 g/1000 ml, hemácias 1/campo, leucócitos 4/campo e cilindros granulosos presentes. *Uréia no sangue* (17-3-60) — 43 mg%. *Sêro-aglutinação para leptospirose* em 9-3 positiva a 1/1800 e em 16-3 negativa. *Provas funcionais do fígado* — Hanger ++, turvação do timol 5,2 U McLagan. *Mucoproteínas no sêro* — 10,2 mg%. *Transaminase G-O* — 410 U/ml.

A hipótese de moléstia de Weil sugerida para o caso se confirmou pela leucocitose, pelas alterações urinárias, pela elevada taxa de mucoproteínas no sangue e pela positividade da sêro-aglutinação para *L. ictero-hemorrhagiae*.

*Evolução e tratamento* — A temperatura vespertina do paciente era de 37°C no dia da internação. Nesse mesmo dia foi iniciada medicação com demetilclortetraciclina na dose de 300 mg cada 6 horas (nas primeiras 24 horas) e em seguida 300 mg cada 12 horas. O paciente não mais apresentou temperatura acima de 36,8°C durante todo o período de internação. O antibiótico foi administrado apenas durante 6 dias (dose total 4,2 g) em virtude de rápida regressão dos sintomas. O paciente teve alta, curado, 14 dias após a internação (ver tabela I).

**CASO 3** — Este paciente deu entrada em 15 de março de 1960 com história de febre, calafrios, cefaléia, anorexia e astenia — sintomatologia que se iniciou abruptamente uma semana antes da internação. No 4º dia de doença surgiram urinas bilirrubinúricas e a febre diminuiu de inten-

sidade. Apresentou vômitos e diarreia. Trabalha em ambiente úmido, onde há ratos em abundância. Ao exame físico: regular estado geral, afebril, bradipsíquico, com acentuada icterícia das escleróticas, pulso 74/min., pressão arterial 120×60. Fígado a 2 dedos do rebordo costal, baço não aumentado. Um exame de urina revelou alterações acentuadas (pigmentos biliares +, albumina 15 g<sup>o</sup>/<sub>100</sub>, hemácias 10/campo, leucócitos 80/campo e cilindrúria), despertando a suspeita de moléstia de Weil. O quadro clínico de início abrupto, as alterações urinárias, a uremia de 417 mg%, os resultados da determinação de transaminase (160 U/ml) e mucoproteínas (6,8 mg%) no sêro sanguíneo e a sêro-aglutinação para *L. ictero-hemorrhagiae* positiva a 1/400 confirmaram o diagnóstico.

*Evolução e tratamento* — Dois dias após a internação foi instituído tratamento com demetilclortetraciclina, na dose de 900 mg nas primeiras 24 horas e em seguida 300 mg cada 12 horas, durante 8 dias. Em 23 de março o paciente sentia-se subjetivamente bem, com apetite, embora ainda icterício. A icterícia começou a regredir em 28-3, quando foi suspensa a medicação. A evolução do quadro clínico e laboratorial foi muito favorável. Não ocorreu recaída e o paciente teve alta curado, 28 dias após a internação (tabela I).

**CASO 4** — Este paciente, de 34 anos de idade, pescador, sujeito a freqüentes contatos com ratos, adoeceu bruscamente uma semana antes da internação, com cefaléia, tonturas, febre e calafrios. Surgiram ainda dores musculares, distúrbios neuropsíquicos, acentuada anorexia e vômitos. Urinas bilirrubínicas e icterícia. Ao dar entrada na Enfermaria, a temperatura era de 38,6°C, pulso 104/min., pressão arterial 105×70 e icterícia rubínica. Notaram-se, ainda, hipermia conjuntival, herpes labial, fígado a 1 dedo do rebordo e ausência de esplenomegalia e de sinais neurológicos. A sêro-aglutinação para *L. ictero-hemorrhagiae* foi positiva a 1/1.600. O *hemograma* revelou 12.200 glóbulos brancos, com 16% de bastonetes e 74% de segmentados, 1% de eosinófilos, 7% de linfócitos e 2% de monócitos. *Exame de urina* com pigmentos biliares presentes, urobilinogênio a 1/50, hemácias 3/campo, leucócitos 15/campo e cilindrúria. *Uréia no sangue*: 122 mg%, bilirrubinemia total de 6,0 mg%. *Mucoproteínas*: 9,15 mg%.

*Evolução e tratamento* — No dia imediato ao da internação foi instituído tratamento com demetilclortetraciclina: durante 5 dias, 600 mg por dia (300 mg de 12 em 12 horas) e nos 5 dias seguintes apenas 300 mg por dia (150 mg de 12 em 12 horas). A evolução deste caso foi excelente, tendo o paciente se tornado afebril em 24 horas e com rápidas melhoras subjetivas. O paciente teve alta, curado, 18 dias após a internação, tendo sido examinado em Ambulatório 8 dias depois, achando-se em ótimas condições de saúde (tabela I).

TABELA I  
Moléstia de Weil e demetilclortetraciclina — Evolução e tratamento.

Caso	Demetilclortetraciclina (Cápsula de 150 mg)				Tempo de desaparecimento da febre após início da medicação	Recidiva	Quadro clínico do paciente à admissão	Resultado
	Data do início	Dose diária	Dose total (g)*	Duração				
1	2-3-1960	300 mg c/ 8 h.	8,100	1 dia	12 horas	Não	Grave	Curado
	3-3-1960	300 mg c/12 h.		12 dias				
2	9-3-1960	300 mg c/ 6 h.	4,200	1 dia	Após o início da droga, a temperatura não mais atingiu 37°C.	Não	Benigno	Curado
	10-3-1960	300 mg c/12 h.		5 dias				
3	8-3-1960	900 mg em 24 h.	5,700	1 dia	Afebril	Não	Mediana gravidade	Curado
	17-3-1960	300 mg c/12 h.		8 dias				
4	26-3-1960	300 mg c/12 h.	4,500	5 dias	1 dia	Não	Mediana gravidade	Curado
		150 mg c/12 h.		5 dias				

\* Efeitos colaterais não foram observados em nenhum dos 4 casos.

#### COMENTARIOS

Embora seja difícil avaliar o real efeito terapêutico dos diferentes antibióticos conhecidos e já experimentados na moléstia de Weil, particularmente quando se atua na segunda fase da doença, isto é, após o período inicial de leptospirose, nota-se, em publicações recentes, a ênfase com que os autores recomendam o emprêgo de antibióticos em seu tratamento<sup>3, 6, 19</sup>. Assim, a penicilina<sup>2, 3, 16</sup>, a clortetraciclina<sup>2, 13</sup>, a oxitetraciclina<sup>14</sup> e a tetraciclina<sup>5</sup> têm sido usadas com aparente sucesso, quer em grupos de pacientes, quer em observações isoladas.

Apesar do otimismo de alguns autores quanto às vantagens do emprêgo dos antibióticos na moléstia de Weil — exceção feita a HALL & col.<sup>7</sup>, que acreditam não terem os antibióticos qualquer efeito apreciável no tratamento das leptospiroses — verificamos ser ainda elevada, entre nós como alhures, a mortalidade devida àquela moléstia. Em atualização sobre o assunto, recentemente publicada por VERONESI & CORRÊA<sup>20</sup>, verifica-se que o índice de mortalidade por doença de Weil no Hospital das Clínicas de São Paulo é de 25%. De nossa parte, analisando os 15 últimos casos de leptospirose internados na Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas desse Hospital (não incluídos aí os quatro que constituem objeto do presente trabalho), computamos quatro casos de óbito (26,6%), não obstante a terapêutica antibiótica administrada.

Tratando-se, portanto, de moléstia infecciosa com elevada mortalidade e conhecendo-se, por outro lado, a atividade *in vitro* e *in vivo* dos antibióticos de largo espectro derivados da tetraciclina sobre a *L. icterohemorrhagiae*, estão plenamente justificados ensaios clínicos com novos antibióticos daquele grupo na doença de Weil. É o caso da demetilclortetraciclina.

O único estudo experimental de nosso conhecimento a respeito da ação da demetilclortetraciclina sobre a *Leptospira icterohemorrhagiae* é o de KUCK e REDIN<sup>10</sup>, os quais realizaram interessante pesquisa, comparan-

do o novo antibiótico com a tetraciclina, com base na dosagem requerida para efeito terapêutico contra infecções experimentais de embriões de galinha. Verificaram aqueles autores que a demetilclortetraciclina era mais eficaz que a tetraciclina em proteger embriões de galinha contra a *L. icterohemorrhagiae*. O “quociente de atividade” da demetilclortetraciclina sobre a *Leptospira* em relação à tetraciclina foi, naquela experiência<sup>10</sup>, de 2,3. Esse quociente é obtido dividindo-se a “dose mediana eficaz” de tetraciclina pela “dose mediana eficaz” de demetilclortetraciclina, entendendo-se por “dose mediana eficaz” aquela requerida para proteger 50% de animais contra infecções bacterianas letais.

GSELL<sup>6</sup> usou como critérios clínicos para avaliar o efeito de um antibiótico na leptospirose os seguintes: a) prevenção da segunda fase de febre (que ocorre geralmente na 2ª semana de doença); b) prevenção de meningite serosa (2ª semana); c) duração total da febre.

A evolução dos quatro casos pode ser considerada excelente, com base nos critérios de GSELL e ainda pela rápida regressão dos sintomas subjetivos, pela progressiva e rápida melhora das alterações urinárias e da taxa de uréia sanguínea e pela não ocorrência de recaída.

Dos 4 casos, o de n.º 1 pode ser classificado como grave, pela idade do paciente (57 anos), pela intensa uremia (620 mg%), pela desidratação e pela presença de sintomas neuropsíquicos. Com base nos mesmos critérios, os casos 3 e 4 eram de mediana gravidade, sendo que no caso 3 predominavam as alterações renais. O caso 2, pela idade do paciente (18 anos) e pelas alterações renais e gerais, pode ser considerado benigno. *Todos eram da forma icterica da moléstia* e os quatro tiveram alta, curados, em ótimas condições gerais.

Para terminar estes comentários, desejaríamos chamar a atenção para dois fatos relacionados ao antibiótico em si. O primeiro diz respeito à dose. Graças à “clear-

ance" renal baixa do novo antibiótico<sup>11</sup>, é possível obter-se atividade maior e mais prolongada no sangue e, dest'arte, doses significantes menores que as dos demais antibióticos de largo espectro e de uso comum em clínica podem ser empregadas, com resultados comparáveis. As cápsulas de demetilclortetraciclina são dosadas a 150 mg. Em nossos casos, a dose média diária foi de 600 mg (300 mg de 12 em 12 horas) e as doses totais respectivamente 8,1 g, 4,2 g, 5,7 g e 4,5 g (tabela I). Estas doses totais são incomparavelmente menores que as doses totais de aureomicina (33 g), terramicina (55 g) e tetraciclina (17 g) usadas em casos semelhantes<sup>13, 14, 5</sup>. O segundo fato digno de nota é que a tolerância pelo medicamento foi ótima, pois em nenhum dos casos houve efeitos colaterais indesejáveis, como náuseas, vômitos, diarréia ou sintomas de natureza alérgica.

#### SUMMARY

*The use of a new antibiotic (demethylchlortetracycline) in Weil's disease. Preliminary results.*

Four patients with Weil's disease were treated with a new broad spectrum antibiotic belonging to the tetracycline group — the 7-chloro-6-demethylchlortetracycline. This new antibiotic was obtained from a mutant strain of *Streptomyces aureofaciens* Duggar in 1957, at the Lederle Laboratories in New York.

The clinical diagnosis of Weil's disease in the four patients was confirmed by positive agglutination test for *Leptospira icterohemorrhagiae* in titers equal to or above 1:400. The total dosage range of the antibiotic was 4.2 to 8.1 grams. The four patients improved quickly; no second week febrile period appeared in any patient; complications did not occur; no side effects were noticed, and all four patients were discharged in fair good health.

#### REFERÊNCIAS

1. Improving antibiotic performance — Editorial do British Med. J., 31 janeiro 1959, pp. 287-288.
2. BATCHELOR, T. M. & TODD, G. M. — Aureomycin and penicillin therapy in leptospirosis (Weil's disease). J.A.M.A., 143:21-22, 1950.
3. DICK, J. M. & ROBINSON, J. F. — Penicillin in the treatment of 84 cases of Leptospirosis in Malaya. J. Royal Army Med. Corps, 103:186-197, 1957.
4. DIERMEIER, H. F. & KANEGIS, L. A. — Demethylchlortetracycline: toxicity studies in rats and dogs. No prelo.
5. FERREIRA, J. M. & ROCHA, H. — Tetraciclina no tratamento da moléstia de Weil. A propósito de um caso. Rev. bras. Med., 12:285-287, 1955.
6. GSELL, von O. — Antibiotictherapie der Leptospirosen. Schweizer. Med. Woch., 89: 422-431, 1959.
7. HALL, H. E.; HIGHTOWER, J. A.; RIVERA, R. D.; BYRNE, R. J.; SMADEL, J. E. & WOODWARD, T. E. — Evaluation of antibiotic therapy in human leptospirosis. Ann. Int. Med., 35:981-998, 1951.
8. HIRSCH, H. A. & FINLAND, M. — Antibacterial activity of serum of normal subjects after oral doses of demethylchlortetracycline, chlortetracycline and oxytetracycline. New England J. Med., 260:1099-1104, 1959.
9. KANEGIS, L. & DEARBORN, E. H. — Serum concentrations and urinary excretion of antibacterial activity following oral or intravenous administration of demethylchlortetracycline, tetracycline or chlortetracycline to dogs. No prelo.
10. KUCK, N. A. & REDIN, G. S. — Comparison of demethylchlortetracycline with tetracycline in the control of experimental infections in mice. No prelo.
11. KUNIN, C. M. & FINLAND, M. — Demethylchlortetracycline, a new tetracycline antibiotic that yields greater and more sustained antibacterial activity. New England J. Med., 259:999-1005, 1958.
12. McCORMICK, J. R. D.; SJOLANDER, N. O.; HIRSCH, U.; JENSEN, E. R. & DOERSHUK, A. P. — A new family of antibiotics: the demethyltetracyclines. J. Am. Chem. Soc., 79:4561-4563, 1957.
13. MEIRA, J. A. & BLOISE, W. — Aureomicina no tratamento da moléstia de Weil. Rev. Med. Cir. São Paulo, 11:23-38, 1951.
14. MEIRA, J. A.; VERONESI, R. & TARTARI, T. A. — Moléstia de Weil. A propósito de um caso tratado com terramicina. Rev. Hosp. Clín., 8:1-9, 1953.

15. SHAPIRO, J.; TABACHNICK, E. & MONAHAN, J. P. — Declomycin (Demethylchlor-tetracycline) development, chemistry, bacteriology and pharmacology. Editado por M. Seelig, Lederle Laboratories, Pearl River, New York, 1960.
16. SUCHETT-KAYE, A. I. — Penicillin in Weil's disease. Lancet, 1:90-92, 1951.
17. SWEENEY, W. M.; HARDY, S. M.; DORN-BUSH, A. C. & RUEGSEGGER, J. M. — Demethylchlor-tetracycline: a clinical comparison of a new antibiotic compound with chlor-tetracycline and tetracycline. Antibiotics & Chemother., 9:13-22, 1959.
18. TUNEVALL, G. & FRISK, A. R. — Bacteriological and clinical evaluation of demethyl-chlortetracycline. 7º Simpósio Anual sobre Antibióticos, Washington, 4-6 de novembro, 1959. No prelo.
19. VAN THIEL, P. H. — The treatment of leptospiroses, especially Leptospirosis ictero-haemorrhagica, with some antibiotics. Doc. de Med. Geogr. et Tropica, 9:309-324, 1957.
20. VERONESI, R. & CORRÊA, M. O. A. — Leptospiroses. Atualização do assunto, particularmente das recentes pesquisas realizadas em São Paulo. Rev. Hosp. Clín., 14:11-24, 1959.

Recebido para publicação em 4 maio 1960.