

MÉTODO RÁPIDO PARA PESQUISAS DE SULFONAMÍDICOS NA URINA*

PAULO HOMEM DE MELLO**

Embora, Mingoia⁴, entre nós, tivesse descrito, em 1940, um método simples de dosagem de sulfas, no qual usa-se uma solução fortemente alcalina de tiocol a 5%, a técnica mais difundida em nosso meio é a que emprega como agente copulador da sulfamida diazotizada o dicloridrato de N (1-naftil) etilenodiamina — técnica estudada e desenvolvida, no Departamento de Farmacologia e Terapêutica Experimental da Universidade Johns Hopkins, por Bratton & Marshall¹, e publicada em 1939.

O método de Bratton & Marshall, convenientemente modificado, tem sido realmente precioso para a leprologia. Ao contrário das sulfas clássicas, as sulfonas administram-se em doses muito baixas e, conseqüentemente, as concentrações de DDS no sangue são da ordem de décimos de miligramo, o que exige uma sensibilidade extraordinariamente fina para um método colorimétrico. Tal requisito é satisfeito plenamente pelo método em questão, capaz de revelar até a ínfima concentração de 10 microgramas em 100 ml do substrato, o que corresponde, para que se tenha uma idéia, ao peso da hemoglobina contida em algumas centenas de eritrócitos.

Contudo, a prática do método de Bratton & Marshall não se generalizou nos serviços do D. P. L., dadas as dificuldades de introduzir amplamente na rotina um método de laboratório que exige equipamento dispendioso e pessoal técnico bastante diferenciado. Seu uso ficou limitado a trabalhos de investigação científica. O que vemos é que, no seu trabalho de sulfonização longa e reiterada de centenas de enfermos, o leprologista, onde quer que esteja, está completamente desarmado neste particular. Essas considerações levaram-nos a procurar um método, suficientemente prático e singelo, que, embora, é claro, não pudesse substituir os citados, pudesse generalizar-se, ainda que o seu mérito fosse apenas o de trazer alguma coisa a um campo onde não havia nada.

O nosso propósito foi pôsto em marcha quando tivemos notícia da técnica de Fennell³ para a detecção e dosagem aproximativa de sulfonamídicos na urina. Investigando o urobilinogênio pela clássica reação do aldeído de Ehrlich, em seus enfermos no Havai, Fennell descobriu que a côr amarelo-canário brilhante, que por vêzes se observa, decorria da presença de sulfa livre nas amostras de urina. Partindo desta nova reação corada, elaborou o seu método. O método de Fennell nos oferecia a grande vantagem de realizar-se com um único reativo: a solução clorídrica do paradimetilaminobenzaldeído, de uso rotineiro nos laboratórios de análises.

* O presente trabalho será apresentado à Sessão Ordinária do mês de Agosto de 1961, da Sociedade Paulista de Leprologia.

** Patologista do Instituto de Pesquisas Científicas do D. P. L. (São Paulo).

MATERIAL E MÉTODO

Prepara-se o reagente clássico de Ehrlich para o urobilinogênio:

Paradimetilaminobenzaldedo	2,0 g
Ácido clorídrico concentrado	15,0 ml
Água destilada para completar	100,0 ml

Com água destilada, dilui-se o reagente de estoque a 1:50, obtendo-se o reagente de uso, segundo prescreve Fennell.

A partir desse ponto, a originalidade de nossa técnica. Ao invés de proceder pelos meios usuais de laboratório (mistura de volumes pipetados em tubos de ensaio), recortamos papel de filtro em pequenos círculos de não menos que 6 a 7 cm de diâmetro, impregnamos-os com o reagente de uso, escorremos o líquido em excesso e deixamos-os secar. Os papéis reativos, impregnados e secos, são guardados ao abrigo da luz, em uma caixa com tampa.

Faz-se a prova deixando cair uma gota da urina em exame no centro do papel reativo. A reação positiva evidencia-se pelo aparecimento de anel amarelo-vivo, que tende a expandir-se por cerca de um minuto, para depois fixar-se. Se os círculos forem de diâmetro demasiadamente reduzido, ou a gota, excessivamente grande, o anel corado desbordará o papel reativo prejudicando a observação do fenômeno. O anel conserva a coloração amarela durante bastante tempo, depois vai esmaecendo a côr, passa ao acinzentado, e desaparece ao fim de alguns dias.

COMENTÁRIOS

A reação é positiva com as sulfas clássicas, as sulfonas e as novas sulfas de ação lenta, e realiza-se sempre com os radicais sulfonamídicos livres, forma pela qual parte variável dessas substâncias são excretadas.

Após a ingestão de apenas 100 mg de DDS já se evidencia a presença da droga na urina transcorridos 60 a 90 minutos.

Nos pacientes impregnados pela sulfonas, pode revelar-se a sulfonúria até cerca de 20 a 30 dias de iniciado o repouso terapêutico.

Embora, grosseiramente, a intensidade da côr do anel corresponda aos teores de sulfona na urina, o método não se aplica à dosagem aproximativa, mas tão somente à pesquisa.

A sensibilidade da técnica situa-se na ordem de cerca de 5 mg por 100 ml de urina. Essa sensibilidade é boa, no caso, dada a concentração renal que sofrem os sulfonamídicos circulantes no sangue. Porém, evidentemente, não se presta para verificações de sulfonemia.

A prova em papel apresenta maior sensibilidade. De fato, quando operamos com urinas densas, e, portanto, mais ricas em urocromo, este pigmento amarelo prejudica a apreciação da cor também amarela da reação; isso não ocorre quando uma pequena gota de urina é estendida sobre o papel reativo.

Dada a relativa freqüência com que se observam aumentos do urobilinogênio urinário nos lepromatosos, praticamos simultaneamente, em numerosas

amostras, a dosagem dêsse cromogênio pela técnica semiquantitativa de Diamond & Wallace², ficando demonstrado que ocasionais aumentos do urobilinogênio não interferem com a pesquisa de sulfonamídicos nas condições propostas.

Os papéis reativos podem ser preparados em grande quantidade, pois conservam-se inalterados, quando guardados ao abrigo da umidade e da luz.

CONCLUSÕES E APLICAÇÕES

Os papéis-reativos constituem uma das mais antigas e simples técnicas de pesquisa química (papel de tornasol, papel indicador Universal, papel impregnado de ácido nítrico para pesquisa de pigmentos biliares, etc.). Recentemente, seu uso vêm se desenvolvendo entre pacientes diabéticos: papéis para verificação de glicose e acetona na urina. O método proposto — papel-reativo para detecção de sulfonúria — inclui-se nessa linha de simplificação para generalização.

Acreditamos possa prestar bons serviços tanto ao médico como ao experimentador.

Permitirá ao leprologista certificar-se de que o paciente vem ou não usando o medicamento que lhe é fornecido. Dúvida que salteia especialmente os responsáveis por tratamentos de ambulatório de enfermos muito jovens, ou rebeldes, ou de ínfima consciência sanitária. Facultar-lhe-á também acompanhar a excreção da droga durante os períodos de descanso terapêutico e evitar as superdosagens de danosos efeitos sobre a medula eritropoiética e os parênquimas hepático e renal. Poderá ainda esclarecer a etiologia dos quadros de cianose periférica que se observam, por vêzes, em pacientes sulfonizados. Enfim, estas ou outras informações semelhantes, poderão ser colhidas, de modo imediato e singelo, quer pelo médico ou seus auxiliares, quer, em casos especiais, pelo próprio enfêrmo, pois tudo do que se necessita é um papel-reativo e uma gota de urina.

Por outro lado, quando novos quimioterápicos de estrutura não sulfonamídica vêm sendo, por toda a parte, ensaiados em grandes grupos de pacientes de lepra, convém que o experimentador se assegure de que o enfêrmo não deliberou "associar-se" à experimentação tomando sulfona às escondidas. Tropêço de se prever com enfermos crônicos, que, com o passar dos anos, vão adquirindo fatalmente graus variáveis de autodeterminação terapêutica, seria lastimável que uma fraude desta espécie pusesse a perder conclusões derivadas de longo e penoso trabalho experimental. O método proposto permitirá verificar, tão amiúde quanto se deseje, por numerosos que sejam os pacientes, se as premissas da experimentação não foram fraudadas.

RESUMO

O autor propõe uma técnica rápida para a identificação de sulfonamídicos na urina. Trata-se da aplicação de nova reação corada descoberta por Fennell, usando-se o reagente de Ehrlich para o urobilinogênio para impregnar papéis reativos. A reação é específica para os sulfonamídicos em geral e bastante

sensível para a pesquisa na urina. Descrevem-se pormenorizadamente o preparo do material, a técnica e as aplicações.

SUMMARY

The author presents a new method for detection of sulfonamidics in urine. A circle of filter paper is treated with Ehrlich reagent for urobilinogen, adequately diluted, and then dried. The test procedure consists in falling a drop of urine on the reactive-paper, which results in appearing of a yellow ring. Sensivity and specificity are commented.

BIBLIOGRAFIA

1. BRATTON, A. C. & MARSHALL, E. K. — S. Biol. Chem., **128**:537, 1939.
2. DIAMOND & WALLACE — Arch. Int. Med., **35**:198, 1925.
3. FENNELL, E. A. — Proc. Staff Meet. Clin., Honolulu, **13**:140-144, 1947.
4. MINGOIA, Q — Arq. Biol., **24**:183-191, 1940.